



**Stéphanie
Branco Leal**

Síntese e Transformação de 3-Cinamoílcromonas



**Stéphanie
Branco Leal**

Síntese e Transformação de 3-Cinamoílcromonas

Tese apresentada à Universidade de Aveiro para cumprimento dos requisitos necessários à obtenção do grau de Mestre em Química, especialização em Química Orgânica e Produtos Naturais, realizada sob a orientação científica da Doutora Diana Cláudia Gouveia Alves Pinto, Professora Auxiliar, e do Doutor Artur Manuel Soares da Silva, Professor Catedrático, ambos do Departamento de Química da Universidade de Aveiro

A ti mãe...

Pela força, coragem e determinação que tens e que sempre me transmitiste
pois foram essenciais para me tornar na pessoa que hoje sou.

o júri

Presidente

Prof. Doutor Artur Manuel Soares da Silva

professor catedrático do Departamento de Química da Universidade de Aveiro

Prof. Doutora Diana Cláudia Gouveia Alves Pinto

professora auxiliar do Departamento de Química da Universidade de Aveiro

Prof. Doutora Clementina Maria Moreira dos Santos

professora adjunta da Escola Superior Agrária do Instituto Politécnico de Bragança

agradecimentos

À Professora Doutora Diana Pinto orientadora deste trabalho, o meu mais profundo agradecimento pela prontidão, preciosa orientação científica, e pela sabedoria transmitidos durante toda a minha formação académica que foram fundamentais para a minha continua descoberta e gosto pela química orgânica.

Ao Professor Doutor Artur Silva coorientador deste trabalho, agradeço sinceramente todo o apoio e disponibilidade constantes no decorrer deste trabalho bem como por todos os ensinamentos transmitidos ao longo do meu percurso académico.

À Professora Doutora Ana Seca gostaria de mostrar uma imensa gratidão pela transmissão de conhecimentos, pelos bons momentos proporcionados no laboratório e pela amizade e dedicação sempre demonstradas.

Ao Professor Doutor José Cavaleiro, Professor Catedrático do grupo de disciplinas de Química Orgânica do Departamento de Química e coordenador da Unidade de Investigação QOPNA da Universidade de Aveiro, pelos ensinamentos transmitidos ao longo do Mestrado.

Ao Lic. Hilário Tavares e à Lic. Cristina Barros, pelo contributo prestado na obtenção dos espectros de RMN e de massa, respetivamente.

A todos os colegas de laboratório pelo apoio prestado e pelas dicas que permitiram o meu enriquecimento científico.

A todos os amigos e conhecidos que sempre me apoiaram ao longo desta jornada. Em especial ao Filipe Rodrigues, Tânia A. Oliveira, Ana Jesus, Nádia da Cruz, Vera Isca, Patrícia Castro, Pedro Varandas, Hugo Santos e Mariana Cavadas, companheiros de muitas aventuras, por estarem sempre presentes nos melhores momentos mas sobretudo nos mais agrestes, obrigado pela paciência.

Aos meus irmãos, Kevin e Gabriel.

palavras-chave

3-cinamoíl-2-estirilcromonas, xanteno-1,9-dionas, xantonas, atividade antioxidante, poder redutor de Fe(III), atividade captadora de radicais DPPH[•].

resumo

Algumas cromonas fazem parte do importante grupo dos flavonoides que estão amplamente representados na Natureza. Esta classe de compostos apresenta inúmeras e importantes propriedades biológicas e a sua síntese tem interesse para um vasto número de investigadores.

O objetivo inicial deste trabalho era sintetizar de derivados de 3-cinamoílcromonas contendo grupos hidroxilo e avaliar a sua atividade antioxidante. Aquando da síntese destes derivados, no último passo sintético, isto é, a desproteção dos grupos hidroxilo, ocorreu uma ciclização com a consequente síntese de derivados de xanteno-1,9-dionas. Descobriu-se assim uma nova rota sintética para a obtenção deste tipo de xantenodionas.

Partindo destes derivados projetou-se a avaliação das suas potencialidades como agentes antioxidantes e a sua aromatização em xantonas.

A aromatização foi alcançada na presença de DBU, mas em fracos rendimentos. A atividade antioxidante foi determinada por redução de ferro (III) e por captação de radicais DPPH[•]. Em ambas as metodologias se revelou que a xantenodiona detentora de dois grupos catecol é a que possui maior poder antioxidante.

Na caracterização estrutural dos compostos sintetizados recorreu-se a técnicas analíticas atuais, especialmente a vários estudos de espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN), os quais incluíram sobretudo o estudo de espectros de ¹H, ¹³C, e estudos bidimensionais de correlação espectroscópica homo e heteronuclear.

keywords

3-cinnamoyl-2-styrylchromones, xanthene-1,9-diones, xanthenes, antioxidant activity, reduction power, scavenging activity of radical DPPH[•].

abstract

Some chromones belong to the important group of flavonoids, a widely represented group of polyphenolic heterocyclic compounds in the Nature. This class of compounds has plenty and important biological properties and consequently their synthesis is still a challenge of research.

The main goal of this work was the synthesis of polyhydroxylated 3-cinnamoylchromone derivatives and the evaluation of their antioxidant activity. In the last step of their synthesis, which consists in the cleavage of the protecting groups, an exceptional cyclization occurs and new xanthene-1,9-diones were obtained. This was a new synthetic route towards xanthene-1,9-diones. Consequently our project aim was changed and we evaluated their antioxidant properties and study their aromatization into xanthenes. The aromatization was achieved with DBU, however the yields weren't as good as we expected. The antioxidant activity was established by iron(III) reduction and DPPH[•] radical scavenging methods. In both assessments the xanthenedione with two catechol groups revealed the greatest antioxidant power.

All synthesized compounds were characterized using modern analytical techniques, with special emphasis on exhaustive nuclear magnetic resonance (NMR) spectroscopy. The NMR methods used include ¹H, ¹³C and 2D homonuclear and heteronuclear correlation spectroscopy.

Abreviaturas

4ppy – 4-Pirrolidinopiridina

ABTS – Ácido 2,2'-azinobis(3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico)

ADN – Ácido desoxirribonucleico

AcMe – Acetato de metilo

AcOH – Ácido acético

BHT – 2,6-Bis(1,1-dimetiletil)-4-metilfenol

Cat. – Catalisador

ChA – 2,3,5,6-Tetraclorociclohexa-2,5-diene-1,4-diona

COSY – Correlação espectroscópica homonuclear (bidimensional) em RMN

d – Duplete

DBU – 1,8-Diazabicyclo-[5.4.0]-undec-7-eno

DCC – *N,N*-Diciclo-hexilcarbodiimida

DCE – 1,2-Dicloroetano

ddd – Duplo duplete

DDQ – 2,3-Dicloro-5,6-dicianobenzoquinona

DMF – *N,N*-Dimetilformamida

DMSO – Dimetilsulfóxido

DMXAA – Ácido 5,6-dimetilxantona-4-acético

DPPH – 1,1-Difenil-2-picril-hidrazilo

EC50 – Concentração média efetiva

EDTA – Ácido etilenodiaminotetracético

HMBC – Correlação espectroscópica heteronuclear a longa distância (bidimensional) em RMN

HSQC – Correlação espectroscópica heteronuclear (bidimensional) em RMN

IUPAC – União internacional de química pura e aplicada

J – Constante de acoplamento

LiHMDS – Bis(trimetilsilil)amido de lítio

m – Multiplete

MAO – Mono-amina oxidase

min. – Minutos

MW – micro-ondas

NOESY – Efeito nuclear de Overhauser e de troca

ppm – Partes por milhão

PKC – Proteína cinase C

p-TSA – Ácido *para*-toluenosulfônico

py – Piridina

RMN – Ressonância magnética nuclear

RNS – Espécies reativas de nitrogénio

ROS – Espécies reativas de oxigénio

t – Tripleto

t-BHP – *tert*-butil-hidroperóxido

TCB – 1,2,3-Triclorobenzeno

temp. amb. – Temperatura ambiente

TLC – Cromatografia de camada fina

Índice

| | |
|---|-----------|
| Abreviaturas..... | i |
| I. Introdução | 1 |
| 1.1. Preâmbulo | 2 |
| 1.2. (E)-2-Estirilcromonas | 2 |
| 1.3. (E,E)-3-Cinamoíl-2-estirilcromonas..... | 7 |
| 1.4. Xantonas | 9 |
| 1.5. Xantenedionas..... | 11 |
| 1.6. Nomenclatura dos compostos sintetizados neste trabalho..... | 14 |
| 1.7. Atividade antioxidante..... | 17 |
| i. Atividade quelante | 20 |
| ii. Poder redutor de ferro (III) | 21 |
| iii. Atividade captadora de radicais DPPH• | 21 |
| 1.8. Objetivos | 22 |
| II. Resultados e discussão | 25 |
| 2.1. Esterificação dos grupos hidroxilo da 2',6'-di-hidroxiacetofenona e da 2',4',6'-tri-hidroxiacetofenona | 27 |
| 2.1.1. Síntese de (E,E)-bis-3-arilacrilatos de 2-acetil-1,3-fenilo..... | 27 |
| 2.1.2. Síntese do (E,E,E)-tris-3-fenilacrilato de 2-acetil-1,3,5-fenilo | 32 |
| 2.2. Síntese de (E,E)-3-cinamoíl-5-hidroxi-2-estirilcromonas | 40 |
| 2.3. Síntese de (E)-3-aril-4-benzilideno-1H-xantene-1,9(2H)-dionas..... | 48 |
| 2.4. Síntese de (E)-3-aril-4-benzilideno-1,8-di-hidroxi-1H-xantene-9-ona | 54 |
| 2.5. Avaliação da atividade antioxidante | 60 |
| i. Atividade quelante do ferro | 60 |
| ii. Poder redutor de ferro(III) | 61 |
| iii. Atividade captadora de radicais DPPH• | 63 |
| III. Parte experimental..... | 71 |
| 3.1. Reagentes, solventes, sílicas e aparelhos utilizados | 73 |
| 3.2. Esterificação dos grupos hidroxilo da 2',6'-di-hidroxiacetofenona e da 2',4',6'-tri-hidroxiacetofenona | 74 |
| 3.2.1. Síntese de (E,E)-bis-3-(3,4-dimetoxifenil)acrilato de 2-acetil-1,3-fenilo | 74 |
| 3.2.2. Síntese de (E,E,E)-tris-3-fenilacrilato de 2-acetil-1,3,5-fenilo | 76 |
| 3.3. Síntese de (E,E)-3-cinamoíl-5-hidroxi-2-estirilcromonas | 79 |
| 3.4. Síntese de (E)-3-aril-4-benzilideno-8-hidroxi-3,4-di-hidro-1H-xantene-1,9(2H)-dionas..... | 83 |

| | |
|--|-----------|
| 3.5. Atividade antioxidante | 85 |
| 3.5.1. Poder redutor de Ferro(III)..... | 85 |
| 3.5.2. Atividade captadora de radicais DPPH* | 86 |
| IV. Conclusão | 87 |
| V. Bibliografia..... | 91 |

I. Introdução

1.1. Preâmbulo

Os compostos heterocíclicos têm um papel importante no desenho e descoberta de novos derivados ativos fisiológica e farmacologicamente, uma vez que existem em abundância na Natureza e possuem importantes atividades biológicas. Tenta-se, por isso, mimetizar a sua estrutura principal com o intuito de sintetizar novos compostos com estas propriedades melhoradas. De entre estes compostos heterocíclicos, alguns foram objeto de estudo neste trabalho, nomeadamente (*E*)-2-estirilcromonas **(1)**, xantonas **(2)** e em particular xantenedionas **(3)** e **(4)**, (figura1). De entre as inúmeras propriedades biológicas que estes compostos possuem a sua atividade antioxidante será realçada.

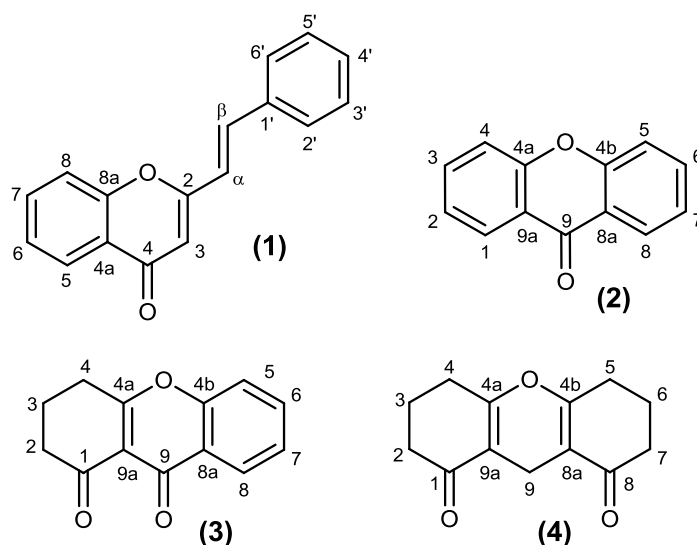


Figura 1. Núcleos base da (*E*)-2-estirilcromona **(1)**, xantona **(2)**, xantene-1,9-diona **(3)**, xantene-1,8-diona **(4)**.

1.2. (*E*)-2-Estirilcromonas

As cromonas **(5)** são uma família de compostos que ocorrem abundantemente na natureza e algumas delas, como por exemplo as flavonas (2-fenilcromonas **(6)**) pertencem ao importante grupo dos flavonoides.^[1] As cromonas apresentam no seu núcleo estrutural base dois anéis fundidos: um benzeno e um pirano com um grupo carbonilo na posição C-4 **(5)** (figura 2).^[1]

As cromonas são resultantes do metabolismo secundário de muitas plantas e apresentam importantes atividades biológicas, podendo atuar como agentes antialérgicos, antioxidantes, antimicrobianos (**(7a-f)**, figura 2),^[2] analgésicos, antivirais, antitumorais, anticancerígenos, bactericidas, inibidores de enzimas (por exemplo: inibidores da xantina desidrogenase),^[2] podendo também diminuir os níveis de colesterol no sangue ou aumentar a atividade cerebral. Este tipo de compostos faz parte da dieta

humana, podendo encontrar-se em legumes, frutas, frutos secos, sementes e flores.^[3] A sua atividade tóxica é muito reduzida, sendo somente manifestada se forem ingeridos em grande quantidade.

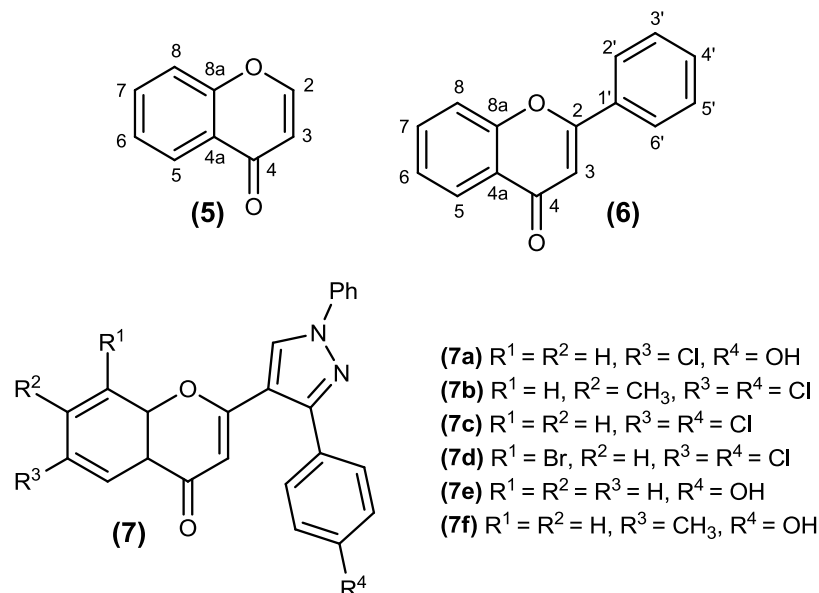


Figura 2. Núcleos base de cromonas simples (5), flavonas (6) e exemplos de cromonas com atividade antimicrobiana (7a-f).

Na indústria farmacêutica já são produzidos diversos fármacos cujos princípios ativos são cromonas. Por exemplo, o ácido cromoglicóico (cromoglicato de sódio) ((8), figura 3) e o nedocromilo sódico ((9), figura 3) são cromonas que atuam como agentes anti-inflamatórios, descongestionantes e antialérgicos no tratamento da asma.^[4] As cromonas presentes na planta *Aloé vera* são também comercializadas, há vários anos, pelos seus benefícios dermatológicos (hidratante, antienvhecimento e capacidade regenerativa) e no tratamento de psoríase,^[5] queimaduras,^[6] úlceras cutâneas,^[7] feridas^[8] e infeções na pele.^[9] Mais recentemente, têm sido estudadas as suas propriedades antitumorais,^[10-15] antiartríticas,^[16, 17] antirreumáticas,^[17-19] anticancerígenas^[13, 20] e antidiabéticas.^[21-24]

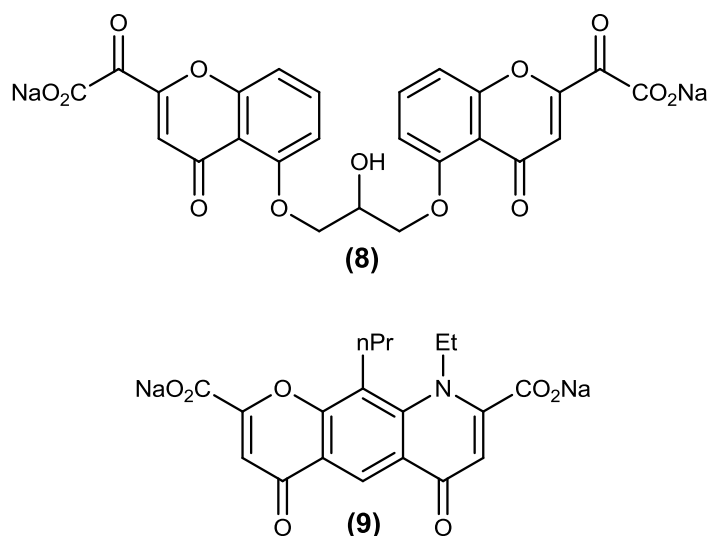


Figura 3. Cromoglicato de sódio (8) e nedocromilo sódico (9).

As cromonas naturais e sintéticas apresentam substituintes tanto no anel benzénico como nas posições 2 e/ou 3 do núcleo pirano. As mais abundantes na natureza e mais importantes, atendendo às suas propriedades biológicas, são as flavonas ((6), figura 2), no entanto, as (*E*)-2-estirilcromonas (figura 1, (1)) embora não sejam muito abundantes na natureza, têm grande importância devido ao facto de muitos derivados sintéticos apresentarem propriedades biológicas que as tornam potenciais agentes terapêuticos.^[25] Sendo de realçar os estudos realizados pelo grupo de investigação de Silva *et al.* que demonstraram a sua atividade hepatoprotetora ((10a-f), figura 4) contra o *t*-BHP,^[26] atividade antioxidante contra as espécies reativas de oxigénio e nitrogénio ((10a-f), figura 4),^[27] atividade anti-inflamatória, por serem inibidoras de enzimas como as ciclo-oxygenases e lipo-oxygenases ((10a-f), figura 4)^[28] e atividade antitumoral, pela sua ação antimitótica.^[29]

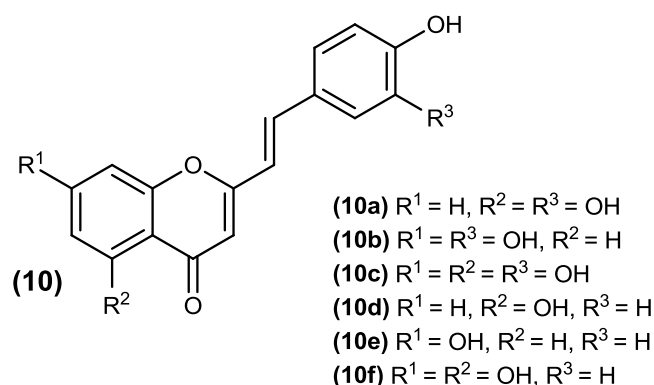


Figura 4. Exemplos de (*E*)-2-estirilcromonas (10a-f) biologicamente ativas.

Na natureza, até ao momento, foram isoladas quatro 2-estirilcromonas: a hormotamniona ((**11**), figura 5)^[30] e a 6-desmetoxi-hormotamniona ((**12**), figura 5),^[31] extraídas das algas azuis-esverdeadas *Chrysophaeum taylori*, a 5-hidroxi-2-estirilcromona ((**13**), figura 5), isolada da espécie *Imperata cylindrica*^[32] e cujo derivado sintético já tinha sido obtido anteriormente,^[33] e mais recentemente a (*E*)-6-hidroxi-2-(4-hidroxi-3-metoxi-estirilcromona), isolada da árvore pau-de-água Chinesa^[34] ((**14**), figura 5). Ambas as 2-estirilcromonas naturais **11** e **12** revelaram possuir atividade anticancerígena,^[35] especificamente a hormotamniona mostrou ser citotóxica *in vitro* contra células leucémicas P388 e P-60 e a 6-desmetoxi-hormotamniona mostrou ser citotóxica contra linhas celulares 9KB. Análogos sintéticos da 5-hidroxi-2-estirilcromona ((**13**), figura 4) demonstraram ter atividade anti-inflamatória ((**10a-f**), figura 4).^[28] A (*E*)-6-hidroxi-2-(4-hidroxi-3-metoxi-estirilcromona) ((**14**), figura 4) provou ter atividade neuroprotetora.^[34]

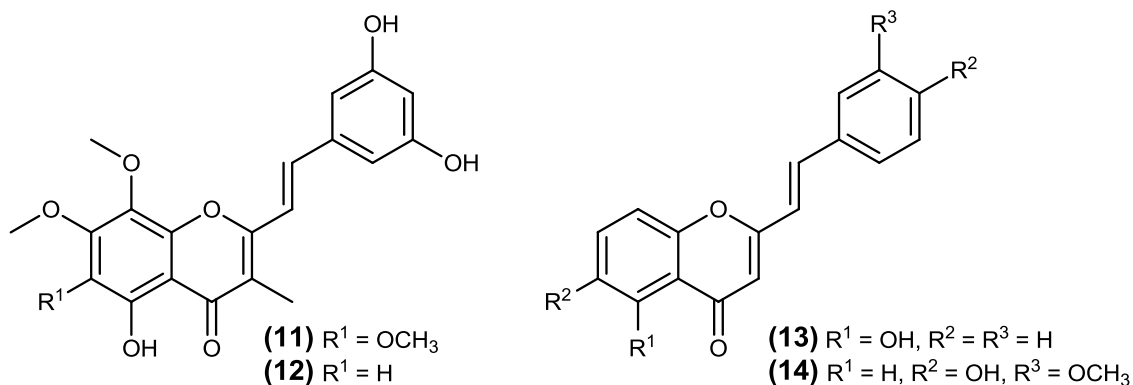
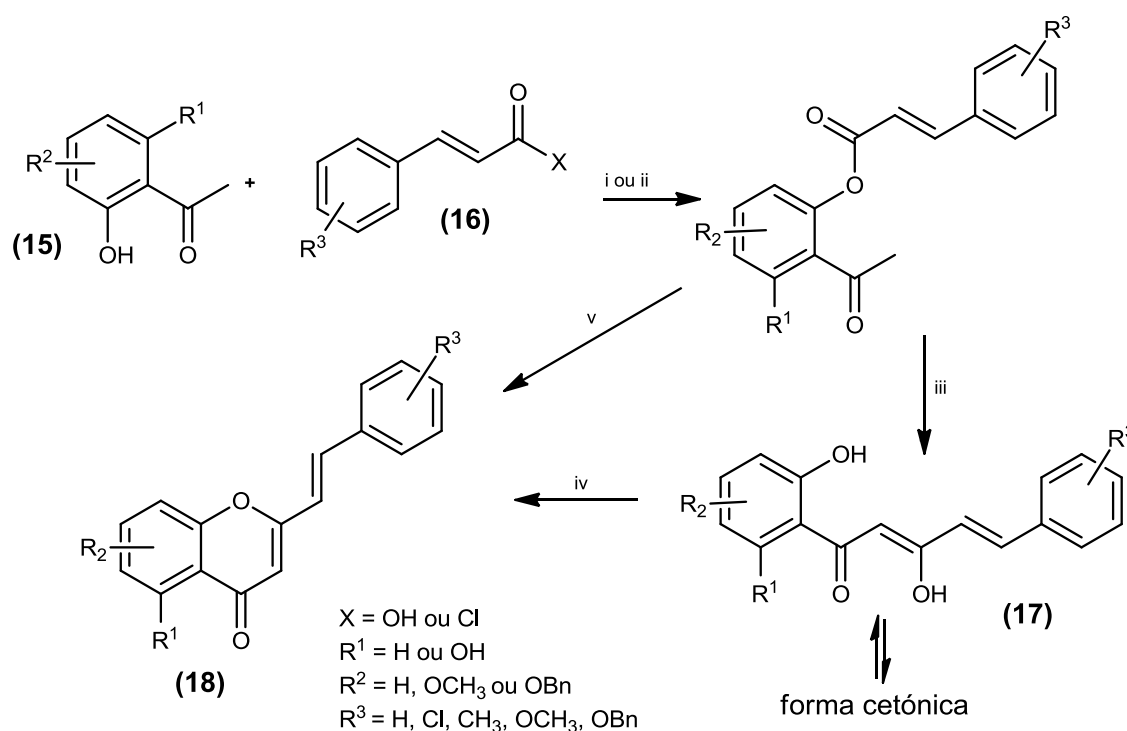


Figura 5. Estruturas da hormotamniona (**11**), 6-desmetoxi-hormotamniona (**12**), (*E*)-5-hidroxi-2-estirilcromona (**13**) e (*E*)-6-hidroxi-2-(4-hidroxi-3-metoxi-estirilcromona) (**14**).

Uma vez que as (*E*)-2-estirilcromonas se revelaram de grande importância a nível biológico tem havido um especial interesse no desenvolvimento de métodos de síntese para a sua obtenção. Em 1994 o grupo de Silva *et al.* desenvolveu um método de síntese de (*E*)-5-hidroxi-2-estirilcromonas por ciclização oxidativa de 2'-benziloxi-6'-hidroxi-2-cinamilidenoacetofenonas.^[36-38] Quatro anos depois, o mesmo grupo procedeu à síntese de outros derivados de (*E*)-5-hidroxi-2-estirilcromonas, pelo método de Baker-Venkataraman partindo de derivados da 2'-hidroxiacetofenona (**15**) e ácidos cinâmicos ou cloretos de cinamoílo (**16**) num método envolvendo três passos reacionais tendo como intermediário uma di-cetona (**17**).^[39] No ano de 2000 este mesmo grupo sintetizou (*E*)-2-estirilcromonas (**18**) pelo mesmo método, partindo de 2',6'-di-hidroxiacetofenonas (**15**) e ácidos cinâmicos (**16**) obtendo um rendimento relativamente baixo (35-45%).^[40] Em 2003 procederam à síntese de outros derivados de (*E*)-2-estirilcromonas (**18**) recorrendo ao

mesmo método mas partindo de uma mono-*orto*-hidroxiacetofenona (**15**) e a ácido cinâmico ou cloreto de cinamoílo (**16**), os catalisadores e solventes utilizados foram também alterados. Esta metodologia envolveu, de forma semelhante ao verificado em 1998 a formação de uma di-cetona como intermediário. Os rendimentos neste caso foram de baixos a muito bons (27-86%). Seis anos depois,^[41] em 2009 o mesmo grupo utilizou mais uma vez o método de Baker-Venkataraman para proceder à síntese de novos derivados de (*E*)-2-estirilcromonas partindo dos mesmos reagentes mas desta vez com todos os grupos hidroxilo protegidos (exceto a hidroxiacetofenona em C-2'), obteve-se igualmente como intermediário uma di-cetona (**17**) e os rendimentos obtidos foram muito bons (76-82%), esquema 1.



Esquema 1. Síntese de (*E*)-2-estirilcromonas pelo método de Baker-Venkataraman; i) DCC, 4ppy (cat.), CH₂Cl₂, temp. ambiente; ii) Py, POCl₃, N₂, temp. ambiente; iii) DMSO, KOH, 2h, temp. ambiente iv) I₂-DMSO (cat.), 100°C ou ácido *p*-toluenossulfónico-DMSO, 100°C; v) K₂CO₃, py seca, N₂, MW.

Alguns dos derivados de (*E*)-2-estirilcromonas (**18**), esquema 1), após desproteção dos grupos hidroxilos, foram sujeitos a estudos de atividade antioxidante, como sejam a sua capacidade de captação de espécies reativas de oxigénio e nitrogénio, quelação de metais e poder redutor.^[27, 28] Mais tarde, outros derivados foram testados, **19a-c** (figura 6) e na maioria dos testes apresentaram resultados muito bons, evidenciando-se o facto da metilação dos grupos hidroxilos afetar negativamente a sua atividade antioxidante de forma geral. Isto deve-se ao facto de que dos três compostos avaliados o derivado que

apresentou melhores resultados foi o derivado **19b** (figura 6) detentor de dois grupos hidroxilo em posição *orto* um com o outro (grupos catecol) no anel aromático do núcleo da cromona e no anel do grupo estirilo, em detrimento dos outros dois derivados **19a** e **19c** (figura 6) que apresentavam dois grupos hidroxilo num anel e dois grupos metoxilo no outro.^[41]

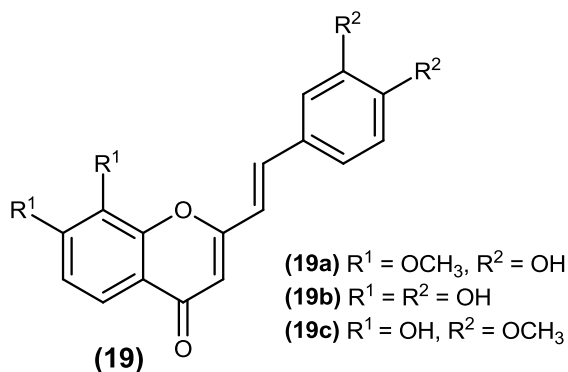


Figura 6. Estrutura de (*E*)-2-estirilcromonas poli-hidroxiladas com atividade antioxidante (**19a-c**).

1.3. (*E,E*)-3-Cinamoíl-2-estirilcromonas

Da planta *Aloe barbadensis* foi extraída uma *C*-glucosilcromona ((**20**), figura 7) com um grupo cinamoílo ligado ao açúcar a qual provou possuir atividade anti-inflamatória.^[4] No caso de 3-cinamoílcromonas não há relatos da sua existência na natureza, mas alguns autores têm-se debruçado sobre a sua síntese.

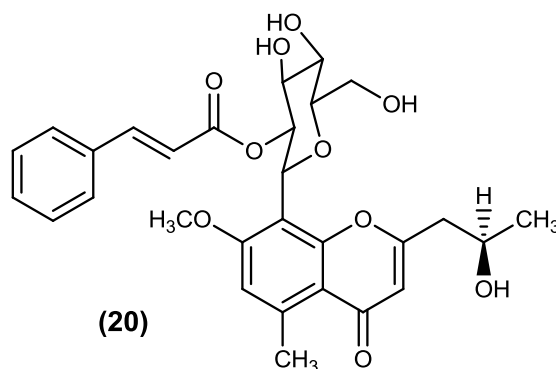
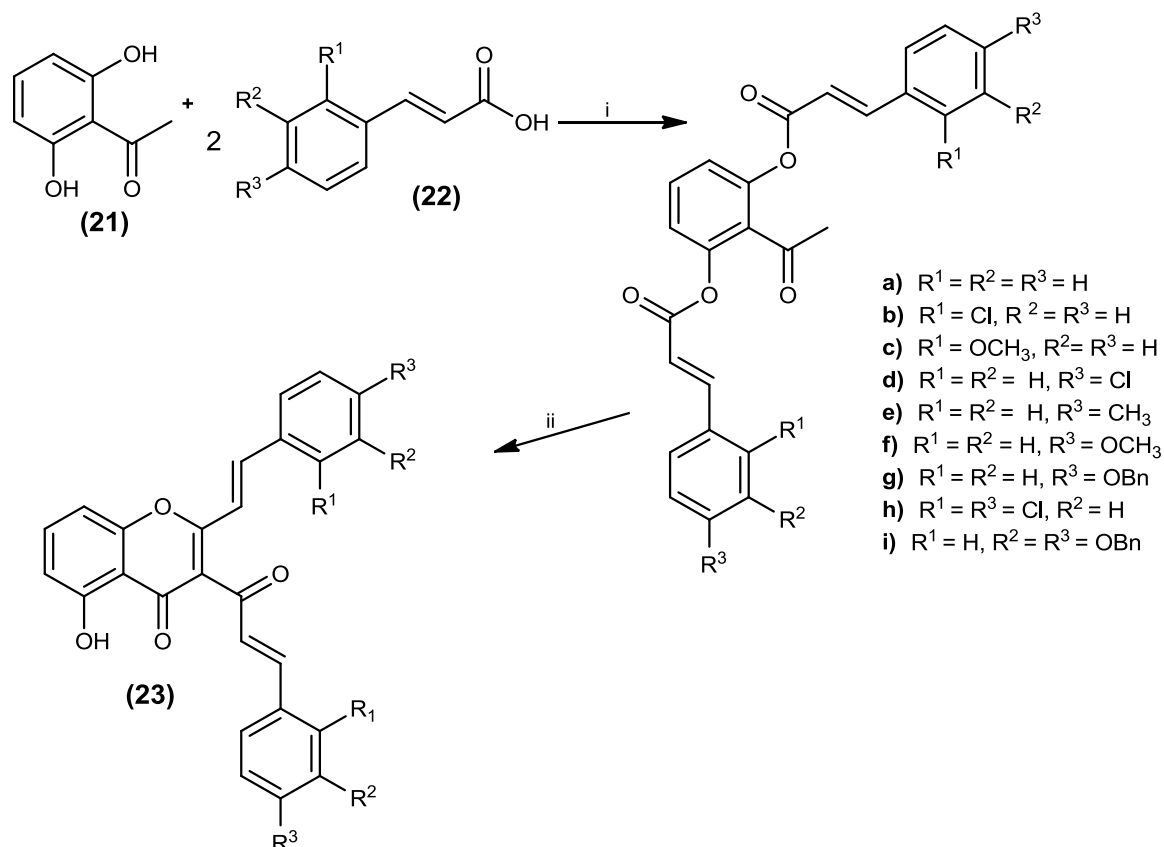


Figura 7. Estrutura da 8-[*C*-β-D-[2-O-(*E*)-cinamoíl]glucopiranosil]-2-[(*R*)-2-hidroxipropil]-7-metoxi-5-metilcromona (**20**).

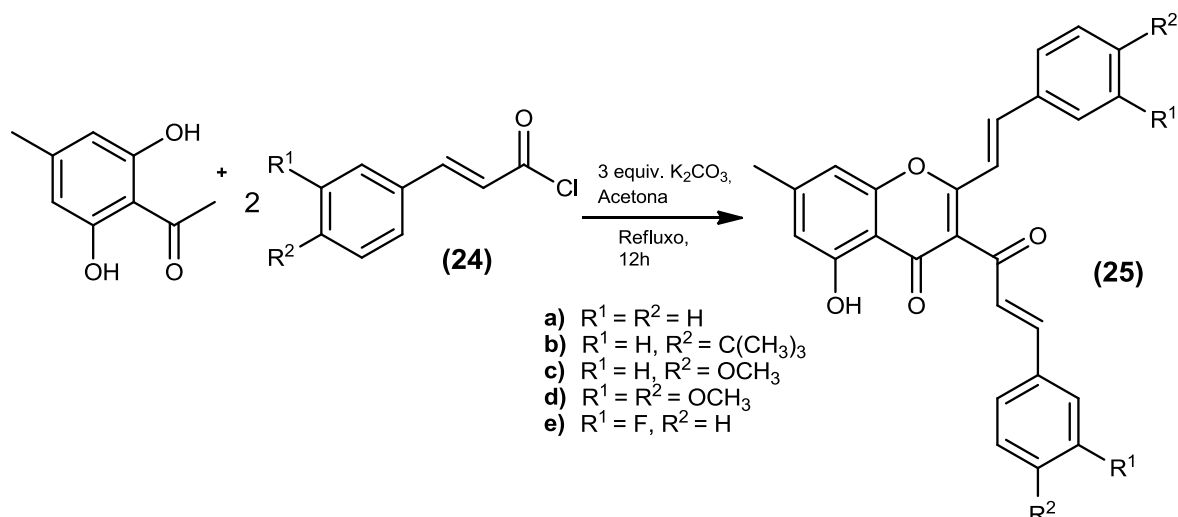
Em 2000 Silva *et al.*^[33] utilizaram o método de Baker-Venkataraman modificado partindo da 2',6'-di-hidroxiacetofenona ((**21**), esquema 2) e do apropriado ácido cinâmico ((**22**), esquema 2) e, através de uma síntese com dois passos reacionais obtiveram várias (*E,E*)-3-cinamoíl-2-estirilcromonas ((**23**), esquema 2). O mesmo grupo, em 2003, ao proceder à síntese de (*E*)-2-estirilcromonas obteve como produtos secundários (*E,E*)-3-cinamoíl-2-estirilcromonas.^[42]



Esquema 2. Síntese de *(E,E)*-3-cinamoil-2-estirilcromonas (**23**); i) 2 equiv. DCC, 0,2 equiv. 4ppy (cat.), CH_2Cl_2 , temp. ambiente, 30 min. ii) K_2CO_3 , py, 120°C , 1h.

Em 2010, Königs *et al.* chegou à síntese de *(E,E)*-3-cinamoil-2-estirilcromonas (**25**, esquema 3) utilizando também o rearranjo de Baker-Venkataraman mas em apenas um passo.^[43]

A maior diferença entre os dois métodos de síntese de *(E,E)*-3-cinamoil-2-estirilcromonas apresentados é, para além de no primeiro se partir de ácidos cinâmicos (**22**, esquema 2) e no segundo de cloretos de acilo (**24**, esquema 3), o tempo de reação. No primeiro, apresentado por Silva *et al.* o tempo total de reação é de aproximadamente 1,5 horas, enquanto o tempo de reação apresentado por Königs *et al.* é de 12 horas.



Esquema 3. Síntese de (*E,E*)-3-cinamoil-2-estirilcromonas (25) num só passo.

1.4. Xantonas

Ao contrário das (*E*)-2-estirilcromonas, existem milhares de xantonas naturais conhecidas e outro tanto de sintéticas e, por isso, inúmeros estudos foram realizados em torno destes compostos. O núcleo das xantonas ou 9*H*-xanten-9-ona (dibenzo- γ -pirona, figura 1, **(2)**) é constituído por três anéis fundidos, dois benzénicos e um pirano central com um grupo carbonilo na posição C-9.^[44-46] Este grupo de compostos são metabolitos secundários de diversas famílias de plantas,^[47-50] nomeadamente das Gentianaceae, Guttiferae, Anacardiaceae, Clusiaceae, Moraceae e Polygalaceae, e sabe-se ainda que existem xantonas como produtos metabólicos de fungos inferiores e também de líquenes.^[44, 50]

As primeiras investigações farmacológicas realizadas com xantonas remontam ao final dos anos 60 (1968), quando Bhattacharya *et al.* descobriu as propriedades diuréticas e cardiotónicas do glicosídeo natural mangiferina (**(26)**, figura 8). A mangiferina é também conhecida como inibidora da enzima mono-amina oxidase (MAO), produzindo um estímulo do sistema nervoso central.^[45]

Até hoje, entre as xantonas naturais e sintéticas já foram descobertas dezenas de propriedades biológicas associadas a estes compostos, nomeadamente a capacidade de modulação da enzima proteína cinase C (PKC), atividade antimicrobiana (antibacteriana, antiparasítica, antifúngica, antiviral, anti-retroviral), inibidora ou estimulante do sistema nervoso central, anti-convulsante/antiepiléptica, analgésica, antiarrítmica, anti-hipertensiva, diurética, antilipémica, anti-hipercolesterolémica, antiulcerosa, anticancerígena^[51], antiplaquetária/anticoagulante, antiasmática, antioxidante, hepatoprotetora, antidiabética, antimalárica, antiosteoporótica, antitumoral, anti-

inflamatória, antialérgica, anti-anafilática, imunomoduladora e também são usadas em doenças fibróticas, disfunção erétil e acondrogénese.^[45, 50]

Atualmente, as xantonas que têm tido maior relevância no que toca à sua atividade biológica são: o ácido DMXAA (ácido 5,6-dimetilxantona-4-acético **(27)**, figura 8), que está em testes clínicos para ser utilizado como agente antitumoral, e os extratos da *Mangifera indica* (Vimang®) e da *Garcinia mangostana* (Xango®), que são já comercializados como suplementos alimentares com propriedades antioxidantes, ambos ricos em xantonas, o primeiro tem como composto maioritário a mangiferina (**(26)**, figura 8) e o segundo é rico em xantonas oxigenadas e preniladas, como por exemplo o γ -mangostin (**(28)**, figura 8).^[45] O mangostão ou *Garcinia mangostana* é uma fruta tropical conhecida como a “Rainha da Fruta” na Ásia e o seu conteúdo em xantonas foi analisado (pelo método DPPH e ensaio com ABTS) e provou ter elevada atividade antioxidante.^[52]

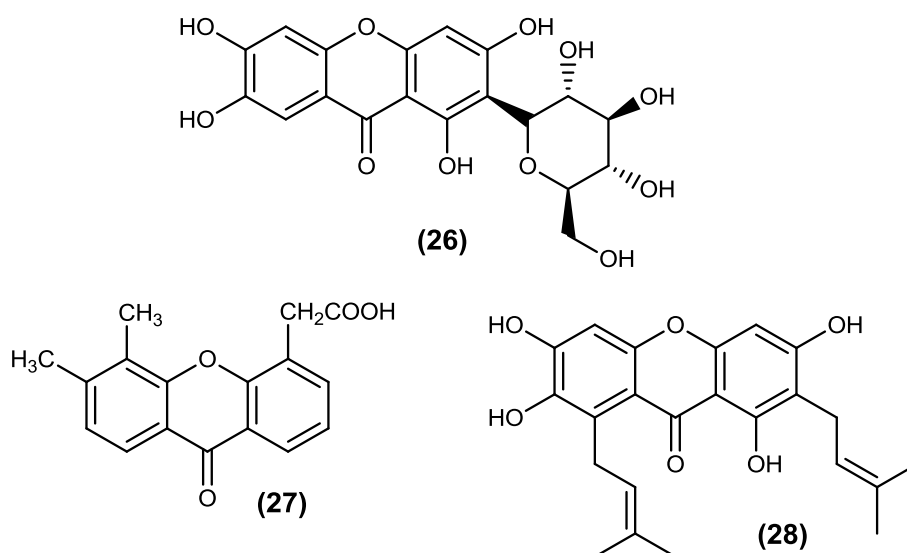


Figura 8. Estruturas da mangiferina **(26)**, do DMXAA **(27)** e do γ -mangostin **(28)**.

Salienta-se o trabalho que tem vindo a ser desenvolvido na síntese de poli-hidroxi-2,3-diarilxantonas (**(29)**, figura 9) e no estudo da sua atividade antioxidante segundo os mais diversos mecanismos de ação. Estudos de correlação estrutura-atividade demonstraram a importância dos grupos catecol e dos grupos hidroxilo para a atividade antioxidante destes derivados. Sendo que a sua capacidade captadora de espécies reativas de oxigénio e nitrogénio tanto quimicamente como em sistemas biológicos, protetora de queratinócitos humanos contra stress oxidativo induzido pelo *t*-butil hidroperóxido e redutora do radical α -tocoferoxilo demonstraram que a presença de grupos catecol, principalmente se presentes nos dois anéis das 2,3-diarilxantonas, confere a estes derivados excelentes qualidades. Em alguns dos estudos a sua capacidade antioxidante verificou-se ser superior à da quercetina (um potente agente

antioxidante).^[53-55] Mais recentemente, foi feita a caracterização eletroquímica de hidroxi-2,3-diarilxantonas que indicou, mais uma vez, as propriedades antioxidantes promissoras deste tipo de derivados, sendo mais evidente para o derivado detentor de dois catecol.^[56]

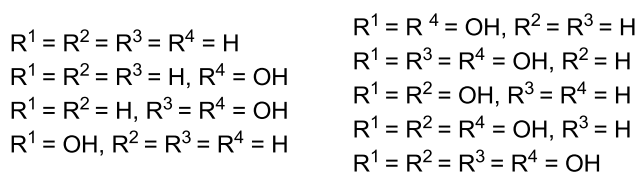
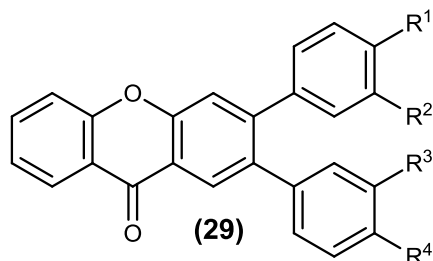


Figura 9. Estruturas de 2,3-diarilxantonas **(29)** com atividade antioxidante.

1.5. Xantenedionas

Os xantenos **(30)**, figura 10) são uma outra classe de compostos heterocíclicos que tem vindo a ser cada vez mais importante devido à crescente descoberta de propriedades biológicas que lhes estão associadas, nomeadamente como inibidores da tripanotona redutase (TryR), como agentes antimaláricos,^[57] inseticidas, corantes alimentares e também como compostos fluorescentes uteis na coloração de material biológico **31**, figura 10.^[58]

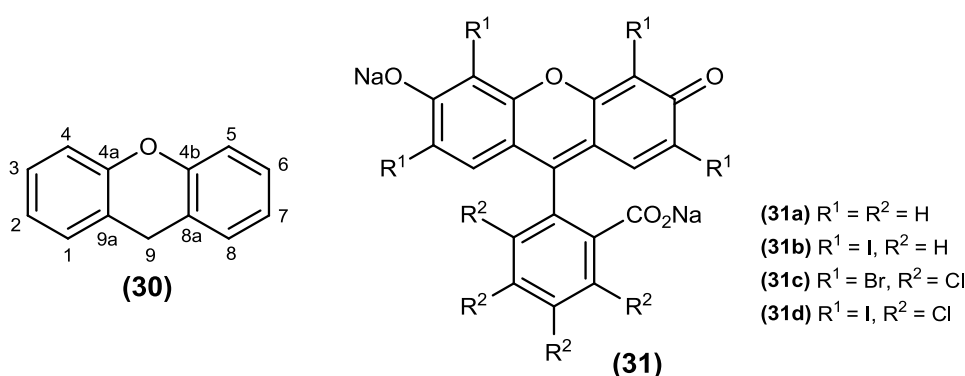


Figura 10. Núcleo estrutural de xantenos **(30)** e de compostos usados como corantes [uranina **(31a)**, eritrosina B **(31b)**, floxina B **(31c)** e rosa bengala **(31d)**].

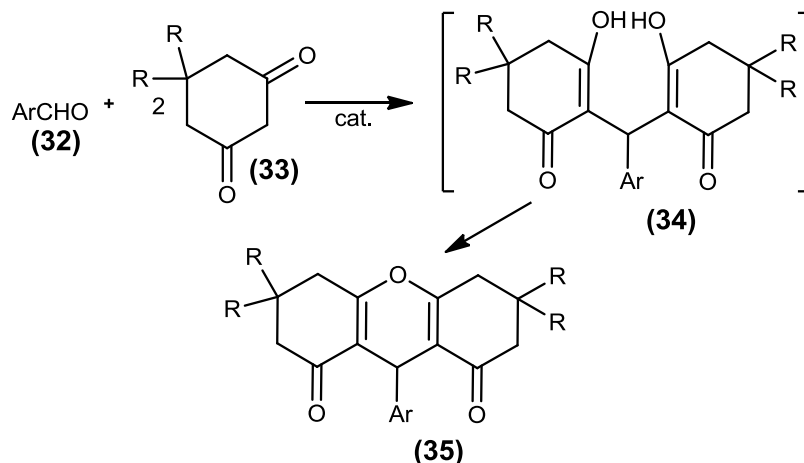
As xantenedionas são derivados oxigenados dos xantenos mas são menos abundantes na natureza, tendo sido já extraídos de plantas como a *Allanblackia*

monticola,^[59] a *Indigofera longeracemosa*^[60] e a *Hypericum reflexum*.^[47] O seu núcleo base é constituído por três anéis, dois aromáticos fundidos a um anel pirano central com grupos oxo em C-1 e em oxo em C-8 ou C-9 (figura 1, **(3)** e **(4)**). Este tipo de núcleo bem como o núcleo dos xantenos são bastante utilizados como sintões para a síntese de diversos compostos.^[61]

Algumas das propriedades biológicas das xantenedionas já reportadas são: atividade antimicrobiana,^[62] antifúngica,^[63] antiviral^[64], anti-inflamatória^[64], modeladora alostérica positiva de recetores metabotrónicos, inibidores não peptídicos da calpeína recombinante humana I,^[65] antagonistas para a ação paralisante da zoxazolamina^[66] e são também usados em terapia fotodinâmica.^[64]

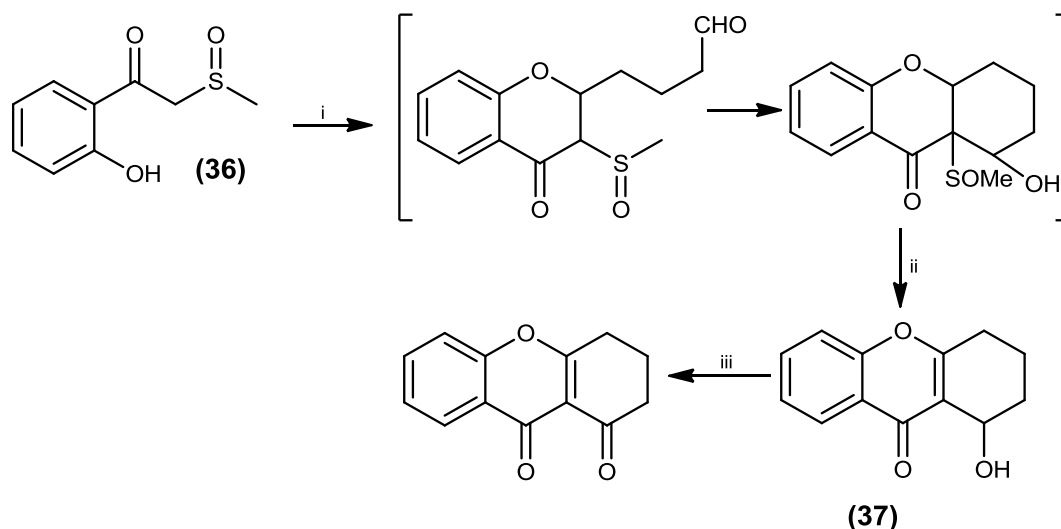
Os métodos de síntese mais utilizados para a obtenção desta classe de compostos têm como reagentes de partida um aldeído (usualmente aromático, **(32)**) e uma dimedona **(33)** (esquema 4). Contudo, os métodos utilizados têm apresentado algumas desvantagens, como baixos rendimentos, longos tempos de reação, uso de um excesso de reagentes e catalisadores e uso de solventes orgânicos tóxicos. Deste modo, e com o intuito de tornar a síntese de xantenedionas mais ecológica, diversos autores têm-se debruçado na procura de alternativas viáveis para a síntese destes compostos.

No que toca à síntese de xantene-1,8-dionas, o que se tem verificado é que muitos autores continuam a utilizar como reagentes de partida um aldeído (**(32)**, esquema 4) e uma dimedona (**(33)**, esquema 4), mas procuram catalisadores como alternativa aos solventes tóxicos, acabando por diminuir também o tempo de reação. Alguns dos catalisadores que foram descobertos como eficazes na síntese de xantene-1,8-dionas (**(35)**, esquema 4) são: EPZ-10,^[67] Fe^{3+} - *montemorillonite*,^[68] $InCl_3 \cdot 4H_2O$ em líquidos iónicos,^[69] EDDA, $In(OTf)_3$,^[64] $ZrOCl_2 \cdot 8H_2O$ ^[70] e HPWA/MCM-41.^[71] Aquando da utilização dos catalisadores apresentados forma-se um intermediário (**(34)**, esquema 4), em que o anel central da xantenediona ainda está aberto e só depois se dá a ciclização e formação dos três anéis fundidos.



Esquema 4. Síntese geral de xantene-1,8-dionas (**35**) utilizando aldeídos aromáticos (**32**) e uma dimedona (**33**) como reagentes de partida.

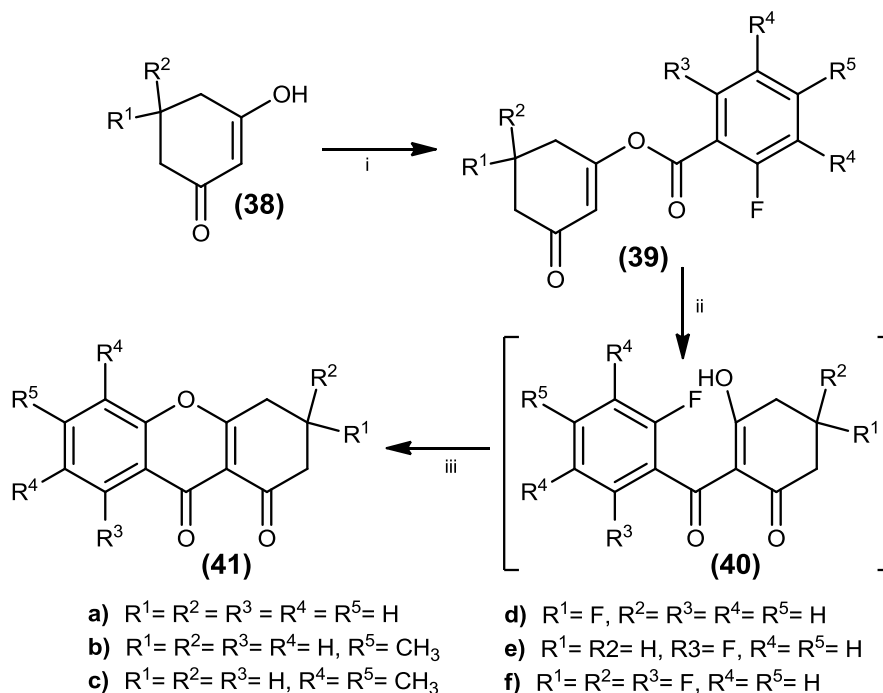
A literatura reporta um método de síntese de xantene-1,9-dionas a partir do β -cetossulfóxido (**36**, esquema 5) por condensação com um glutaraldeído, seguida de uma eliminação térmica formando-se a xantona (**37**, esquema 5) que é por fim oxidada usando o reagente de Jones, embora este método origina rendimentos muito baixos (7%).



Esquema 5. Síntese de xantene-1,9-dionas a partir de β -cetossulfóxido (**36**) e glutaraldeído; i) $\text{OHC}(\text{CH}_2)_3\text{CHO}$ (aq), piperidina, DMF, 50 a 80°C ; ii) 110 a 140°C ; iii) CrO_3 , H_2SO_2 (concentrado), H_2O , AcMe.

Gabbutt et al. desenvolveram um outro método de síntese deste mesmo composto, mas usando como reagentes de partida ciclo-hexano-1,3-dionas (**38**, esquema 6) com cloretos de 2-fluorobenzoílos na presença de DBU originando o éster (**39**, esquema 6). Por rearranjo de Fries do referido éster forma-se o produto **40** que

sofre uma ciclização e origina a respetiva xantene-1,9-diona ((**41**), esquema 6) agora com melhores rendimentos (72 a 87%).^[72]



Esquema 6. Síntese de xantene-1,9-dionas (**41**) a partir de ciclohexano-1,3-dionas (**38**) e cloretos de 2-fluorobenzóis; i) ArCOCl , DBU, MeCN, -10°C ; ii) AlCl_3 , DCE, -10 a 25°C ; iii) EtOH e calor.

1.6. Nomenclatura dos compostos sintetizados neste trabalho

A 2',6'-di-hidroxiacetofenona **42a** e a 2',4',6'-tri-hidroxiacetofenona **42b** são reagentes comerciais usados neste trabalho. A sua nomenclatura e numeração usadas correspondem à recomendada pela IUPAC, (figura 11).^[73]

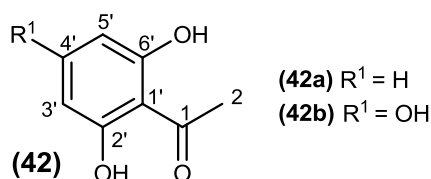


Figura 11. 2',6'-Di-hidroxiacetofenona (**42a**) e 2',4',6'-tri-hidroxiacetofenona (**42b**).

Os ácidos cinâmicos **43a-d** e o cloreto de cinamoílo **43e** são outros dos reagentes de partida utilizados neste trabalho e a sua numeração e nomenclatura usadas são as recomendadas pela IUPAC, figura 12.^[73]

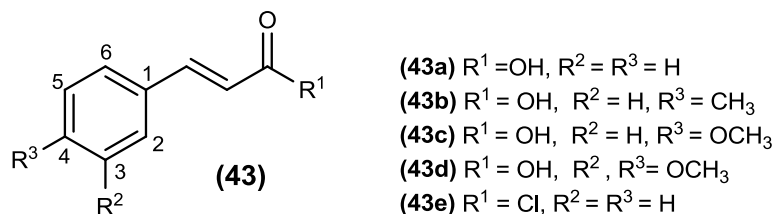


Figura 12. Ácido cinâmico (43a), ácido *p*-metilcinâmico (43b), ácido *p*-metoxicinâmico (43c), ácido 3,4-dimetoxicinâmico (43d) e cloreto de cinamoílo (43e).

Os primeiros intermediários na síntese das (*E,E*)-bis-3-arilacrilato de 2-acetil-1,3-fenilo (44a-d) e (*E,E,E*)-tris-3-fenilacrilato de 2-acetil-1,3,5-fenilo (45a-b)¹ cuja nomenclatura e numeração utilizadas neste trabalho estão de acordo com o apresentado na figura 13.^[74] O anel A destes derivados encontra-se numerado de 1' a 6', os anéis B de 1'' a 6'' e o anel C, no caso dos derivados 45 está numerado de 1''' a 6''' , figura 13.

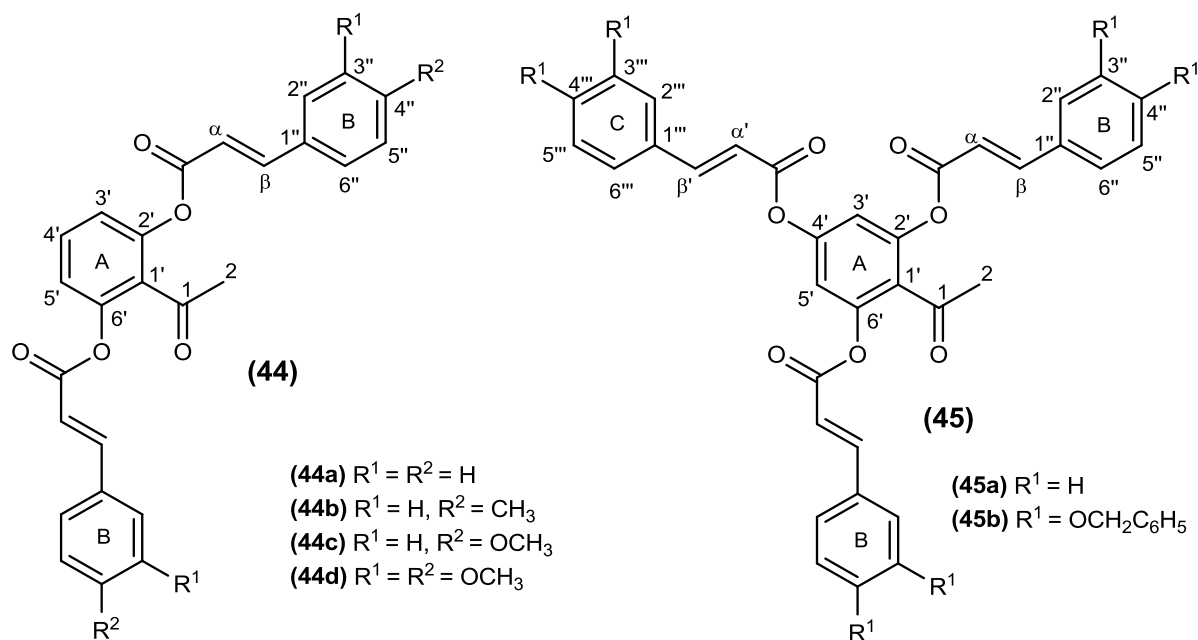


Figura 13. (*E,E*)-Bis-3-arilacrilato de 2-acetil-1,3-fenilo (44a-d), (*E,E,E*)-tris-3-fenilacrilato de 2-acetil-1,3,5-fenilo (45a-b).

A denominação (*E*)-3-cinamoíl-5-hidroxi-2-estirilcromonas deve-se ao facto de serem cromonas (parte I, anéis A e C numerados de 1 a 10), que em C-2 possuem um grupo estirilo (parte II, anel B numerado de 1' a 6'), e em C-3 um grupo cinamoílo (parte III, anel D numerado de 1'' a 6'') (46a-d). A configuração das duas ligações duplas foi comprovada por RMN como sendo *E*, figura 14.^[74, 75]

¹ Os derivados 44a-d e 45a-b serão ao longo deste trabalho referidos como di-ésteres e tri-ésteres, respetivamente, na tentativa de simplificação da linguagem.

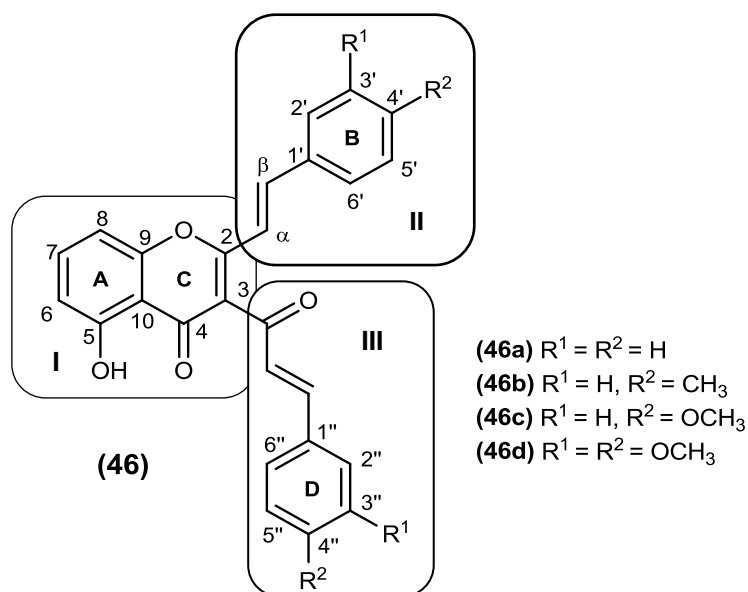


Figura 14. (*E,E*)-3-Cinamoil-5-Hidroxi-2-estirilcromonas (**46a-d**).

A nomenclatura dos derivados (*E*)-3-aryl-4-benzilideno-8-hidroxi-3,4-di-hidro-1*H*-xantene-1,9(2*H*)-diona (**47**)² utilizados neste trabalho é a apresentada na figura 15 e segue as recomendações da IUPAC.^[73] Os anéis A, B e C constituem o núcleo xantenediona encontrando-se numerados de 1 a 9a, o anel D está numerado de 1' a 6' e o anel E de 1'' a 6'', figura 15.

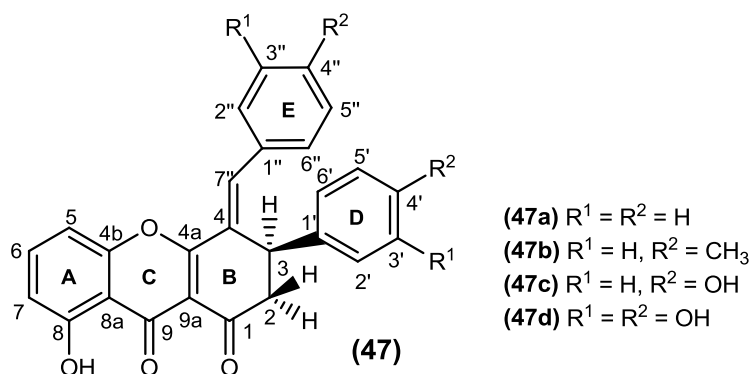


Figura 15. (*E*)-3-Aril-4-benzilideno-8-hidroxi-3,4-di-hidro-1*H*-xantene-1,9(2*H*)-dionas (**47a-d**).

Partindo das xantenedionas sintetizadas procedeu-se à síntese de derivados de (*E*)-3-aryl-4-benzilideno-1,8-di-hidroxi-9*H*-xanten-9-ona (**48**).³ A nomenclatura e

² Os derivados **47a-d** serão ao longo deste trabalho referidos como xantenedionas, na tentativa de simplificação da linguagem.

³ Os derivados **48a-d** serão ao longo deste trabalho referidos como xantonas, na tentativa de simplificação da linguagem.

numeração utilizadas para estes compostos é idêntica à aplicada para os derivados **47**, bem como a sua numeração e designação dos anéis, figura 16.^[73]

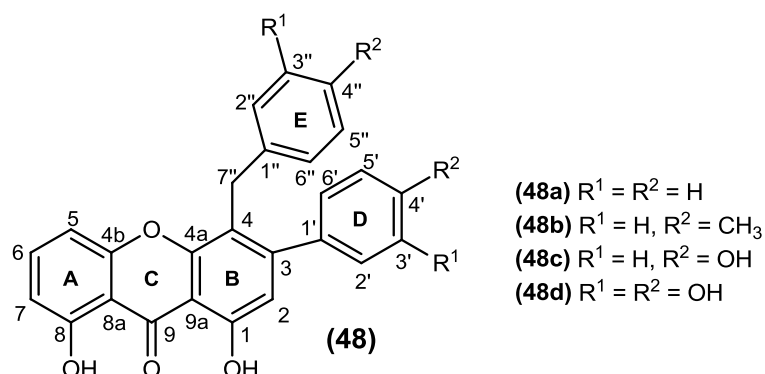


Figura 16. (*E*)-3-Aril-4-benzilideno-1,8-di-hidroxi-9*H*-xanten-9-ona (**48a-d**).

1.7. Atividade antioxidante

O metabolismo humano tem como subprodutos radicais livres e outros oxidantes que, em condições normais estão em equilíbrio com antioxidantes. Quando este balanço é alterado, e a formação de espécies reativas de oxigénio e nitrogénio (incluindo radicais livres) é superior à capacidade de resposta do sistema antioxidante endógeno, ocorre um fenómeno denominado de stress oxidativo. Os radicais livres são espécies formadas quando o oxigénio é metabolizado ou formado no organismo e possuem um par de eletrões não compartilhados na camada de valência da molécula. Esta é a razão pela qual os radicais livres são altamente reativos podendo finalmente reagir e provocar alterações em biomoléculas como proteínas, ácidos gordos (polinsaturados), hidratos de carbono e mesmo ácidos nucleicos, incluindo ADN. Segundo diversos autores, existem evidências que demonstram a correlação entre a presença de radicais livres e outros oxidantes e o surgimento de diversas doenças, nomeadamente cancro, Alzheimer, Parkinson, doenças cardiovasculares, insuficiência hepática, envelhecimento celular e aterosclerose. A presença destes compostos oxidantes no organismo pode dever-se a agentes endógenos (metabolismo dos nutrientes, metaloproteínas, entre outros) e/ou exógenos (fumo do tabaco, poluição atmosférica, solventes orgânicos, pesticidas, radiação ionizante, temperatura, entre outros).

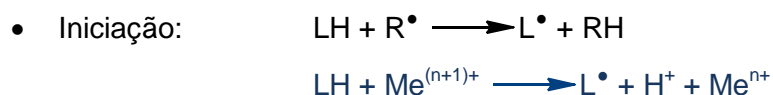
A nível alimentar existe também uma grande preocupação devido à oxidação dos alimentos, nomeadamente dos lípidos que os constituem. Este tipo de reação afeta a qualidade nutricional, segurança, cor, sabor e textura dos alimentos. Os agentes antioxidantes, por prevenirem a sua deterioração, são importantes componentes que

protegem a qualidade dos mesmos, sendo assim usados em conjunto com os processos tradicionais de armazenamento (empacotamento a vácuo, alteração da atmosfera do recipiente por um gás inerte, para uma maior remoção do oxigénio, ou ainda o congelamento dos alimentos).

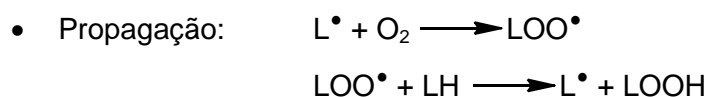
Um antioxidante é uma molécula (ou ião ou um radical relativamente estável) capaz de diminuir ou mesmo de prevenir a oxidação de outras moléculas. Tem havido um crescente interesse nos compostos que apresentam esta propriedade, uma vez que se tem verificado a sua eficácia tanto no prolongamento da validade dos alimentos como no melhoramento da saúde dos consumidores de suplementos que contenham antioxidantes. Este tipo de compostos pode atuar como quelantes de iões metálicos, impedindo a formação de espécies reativas de oxigénio ou mesmo reagindo com estas espécies, neutralizando-as.

Como mencionado anteriormente, em todas as classes de compostos apresentados existem derivados que possuem propriedades antioxidantes. Os grupos hidroxilo presentes nestes compostos têm-se revelado de extrema importância para a sua atividade antioxidante, uma vez que eles próprios são capazes de formar radicais, eliminando os radicais livres presentes no organismo. Os antioxidantes quando na forma radicalar são estabilizados por ressonância não sendo por isso capazes de iniciar reações de oxidação.^[76]

Os compostos antioxidantes podem exercer a sua função utilizando diversos mecanismos, de entre os quais se destacam a quebra das reações radicalares em cadeia e a quelação de metais, por interceção radicalar primária e por reações de quebra de alcóxilos. Em seguida apresentam-se genericamente estes dois mecanismos de atuação de antioxidantes:



A presença de radicais (R^\bullet) e/ou metais de transição no seu estado de valência mais elevado ($\text{Me}^{(n+1)+}$) provoca uma imediata remoção do hidrogénio do substrato (LH) formando-se um radical (L^\bullet). O radical formado (L^\bullet) pode agora facilmente reagir com oxigénio e formar um radical peróxilo.

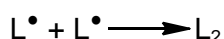
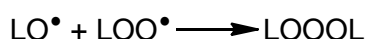
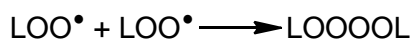
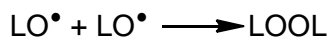


Os radicais peroxilo podem oxidar moléculas alvo, produzindo hidroperóxidos (LOOH), que por sua vez se podem transformar numa grande variedade de compostos (álcoois, aldeídos, compostos alquilo, cetonas, hidrocarbonetos e radicais livres hidroxilo, alcoxilo e peroxilo). Esta transformação pode ocorrer com ou sem a presença de metais de transição, mas é muito mais rápida com a presença destes oxidantes.

- Transformação dos hidroperóxidos:



- Terminação:



Os aspetos mais importantes a ter em conta na estrutura de um fenol (uma vez que são os grupos hidroxilos presentes nos anéis aromáticos que vão atuar como sequestradores de radicais) para que este tenha uma elevada capacidade antioxidante são:

- Uma estrutura *orto*-di-hidroxilo no anel B conjugada com a dupla ligação entre os carbonos C-2 e C-3, no caso de cromonas, ou entre os carbonos C-4a e C-9a, no caso de xantenedionas e xantonas, conjugada também com grupo oxo em C-4 ou C-9, para cromonas ou xantenedionas e xantonas respetivamente, ou
- Grupos hidroxilo nos carbonos C-3 e C-5 conjugados com o grupo 4-oxo (no caso das cromonas), ou
- Grupos *meta*-di-hidroxilo no anel B, conjugados com um grupo hidroxilo no carbono C-3, o grupo 4-oxo no anel C e a ligação dupla entre os carbonos C-2 e C-3, (no caso das cromonas) ou
- Uma estrutura *orto*-di-hidroxilo nos carbonos 7 e 8 do anel A, conjugados com um grupo fenilo como substituinte no carbono C-2 e um grupo benzoilo como substituinte no carbono C-3 (no caso das cromonas).^[1, 76, 77]

Estas conjugações são muito importantes para que o composto estabilize o(s) radical(ais) formado(s), por deslocalização de eletrões. Esta estabilização vai permitir que o antioxidante seja mais eficaz, ou seja, tenha maior capacidade de formar radicais livres e doar hidrogénios a radicais livres com que esteja em contacto e assim impedir a sua ação oxidante.^[77, 78] Os grupos hidroxilo têm um papel fundamental, pois é o átomo de hidrogénio destes grupos que é doado ao radical livre.

A quercetina (**49**) é dos agentes antioxidantes mais estudados devido à sua elevada capacidade de redução de radicais livres, e como tal é utilizada para termo de comparação em estudos de atividade antioxidante.^[79] É um flavonoide com todas as principais características que um bom antioxidante deve conter: grupos *orto*-hidroxilo no anel B, ligação dupla entre os carbonos 2 e 3, grupo hidroxilo em C-3 e grupo 4-oxo.^[78, 79]

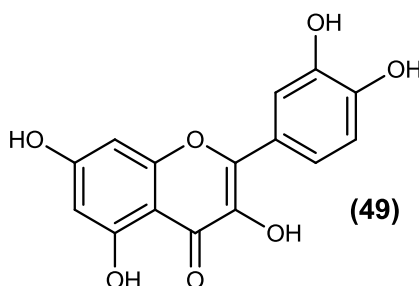


Figura 17. Quercetina.

A determinação da capacidade antioxidante de um composto não deve ser baseada apenas nos resultados obtidos por um método, uma vez que existem diversos mecanismos de atuação dos compostos antioxidantes. Os métodos mais simples e que se escolheram para a determinação da atividade antioxidante das xantenedionas sintetizadas neste trabalho são:^[80-83]

i. Atividade quelante

A atividade quelante de metais é um mecanismo muito importante em termos de prevenção da oxidação de biopolímeros, uma vez que os metais de transição são responsáveis por catalisar a formação de radicais livres, que como mencionado anteriormente, são responsáveis pela deterioração tanto de alimentos como de componentes celulares, o que por sua vez leva ao desenvolvimento de diversas doenças.

Neste método em específico é testada a capacidade do composto em estudo complexar com ferro(II). É utilizada a ferrozina que complexa com Fe^{2+} (complexo apresenta cor vermelha) e na presença de outros compostos quelantes há diminuição deste complexo, ferrozina- Fe^{2+} , para dar lugar à formação do complexo antioxidante- Fe^{2+} ,

levando à diminuição da cor vermelha da solução, que se traduz na redução da absorvância a 562 nm. O EDTA **(50)** é utilizado como controlo positivo por ser um composto com elevada capacidade quelante de Fe^{2+} .^[80, 82, 83]

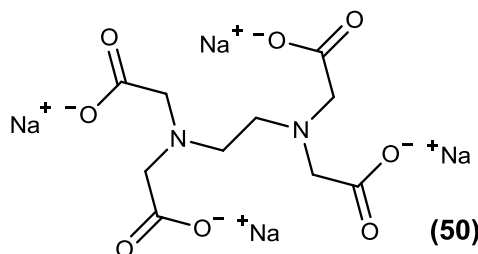


Figura 18. EDTA tetrasódico.

ii. Poder redutor de ferro (III)

A capacidade redutora de um composto é associada com a sua atividade antioxidante, uma vez que a capacidade redutora de uma molécula indica que esta é dadora de eletrões e por isso é capaz de reduzir intermediários oxidados, provenientes, por exemplo, de processos de peroxidação lipídica, e assim atuarem como antioxidantes primários, secundários ou por quebra da cadeia de radicais livres.^[82]

Este método consiste na medição, por espectrofotometria, da redução do complexo ferricianeto de potássio- Fe^{3+} para a sua forma ferrosa (Fe^{2+}), que se traduz num aumento da absorvância a 700 nm. Com a presença de antioxidantes a cor amarela da solução muda para diferentes tonalidade de verde ou azul dependendo do poder redutor da amostra antioxidante. É usual neste método usar-se BHT **(51)** como controlo, uma vez que é um potente antioxidante por redução do ferro.^[80, 82, 83]

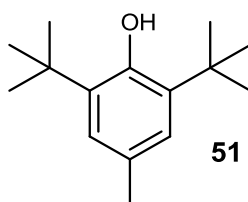


Figura 19. BHT.

iii. Atividade captadora de radicais DPPH•

De todos os métodos de determinação da atividade antioxidante, *in vitro*, que testam a capacidade sequestradora de radicais livres de compostos, este é o mais utilizado pela sua facilidade e rapidez de execução, não envolvendo muitos passos nem reagentes, e pelo facto de ser pouco dispendioso quando comparado com a maioria

deste tipo de testes. DPPH[•] (**52**) é um radical livre e este método consiste na medição da capacidade de redução deste radical por parte de um composto antioxidante dador de hidrogénio com consequente formação de DPPH₂ (**53**), um composto não radicalar. Esta redução é medida espectrofotometricamente, uma vez que a cor da solução DPPH-antioxidante (em metanol) muda de violeta para amarelo à medida que o composto antioxidante vai reduzido o radical DPPH[•] a DPPH₂.^[80, 82, 83]

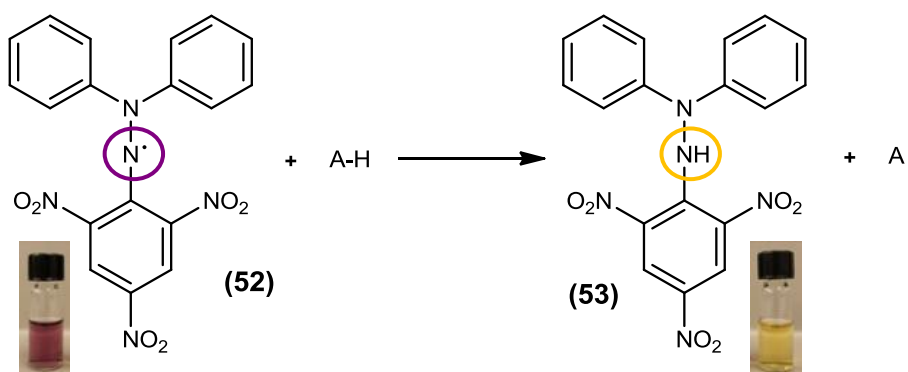
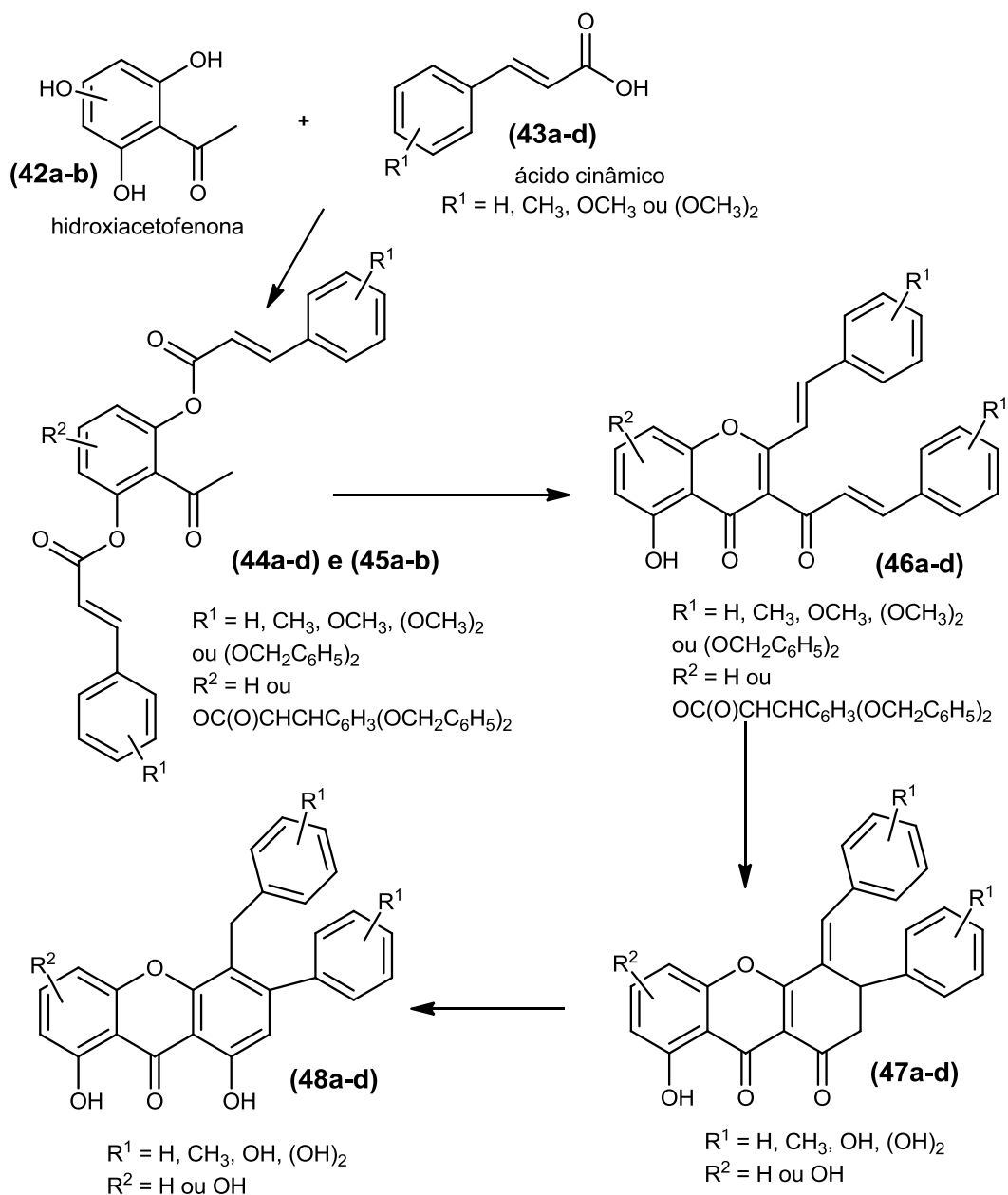


Figura 20. Estrutura molecular do radical DPPH[•] (**52**) e da DPPH₂ (**53**); A-H – composto antioxidante, A[•] - radical do composto antioxidante.

1.8. Objetivos

Este trabalho foi desenvolvido com o principal objetivo de sintetizar compostos polihidroxilados com esqueleto base de (*E,E*)-3-cinamoíl-2-estirilcromonas detentores de atividade antioxidante. A metodologia escolhida para a síntese destes derivados pressupõe a otimização de condições já utilizadas pelo grupo de investigação de Química Orgânica da Universidade de Aveiro.^[33] O último passo desta via sintética para obtenção das estirilcromonas seria a desproteção dos grupos hidroxilo. Como será elucidado mais adiante, esta reação de desproteção levou, não só à desproteção dos grupos hidroxilo mas também à formação de um novo anel, sintetizando-se assim novas xantenedionas. Apesar de não ter corrido como pretendido, a metodologia utilizada levou à síntese de um grupo de compostos cuja síntese ainda não está muito desenvolvida, apesar de serem conhecidas propriedades biológicas para alguns derivados. Assim, procedeu-se à síntese de alguns derivados e, aproveitando a sua semelhança estrutural com as xantonas, um grupo de compostos conhecido pelas suas numerosas e importantes atividades biológicas, idealizou-se a sua transformação em novos derivados de xantonas (esquema 7).

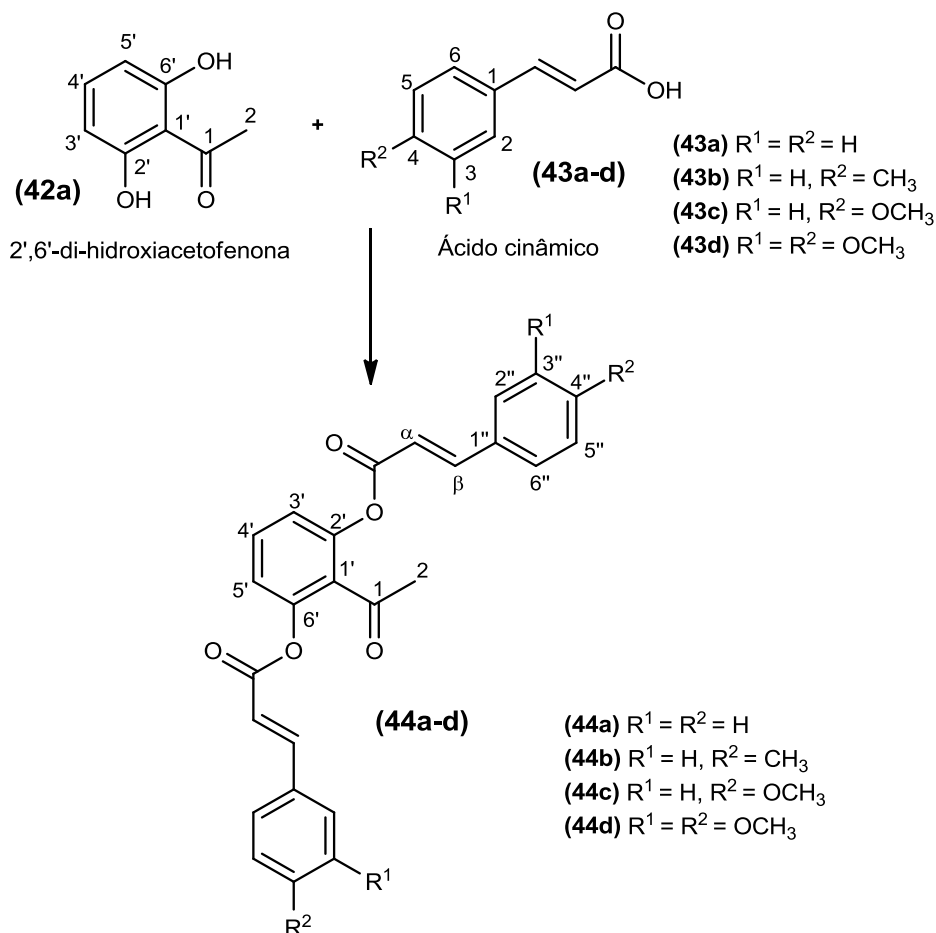


Esquema 7. Representação geral das sínteses a serem desenvolvidas neste trabalho.

II. Resultados e discussão

2.1. Esterificação dos grupos hidroxilo da 2',6'-di-hidroxiacetofenona e da 2',4',6'-tri-hidroxiacetofenona

2.1.1. Síntese de (*E,E*)-bis-3-arylacrilatos de 2-acetil-1,3-fenilo



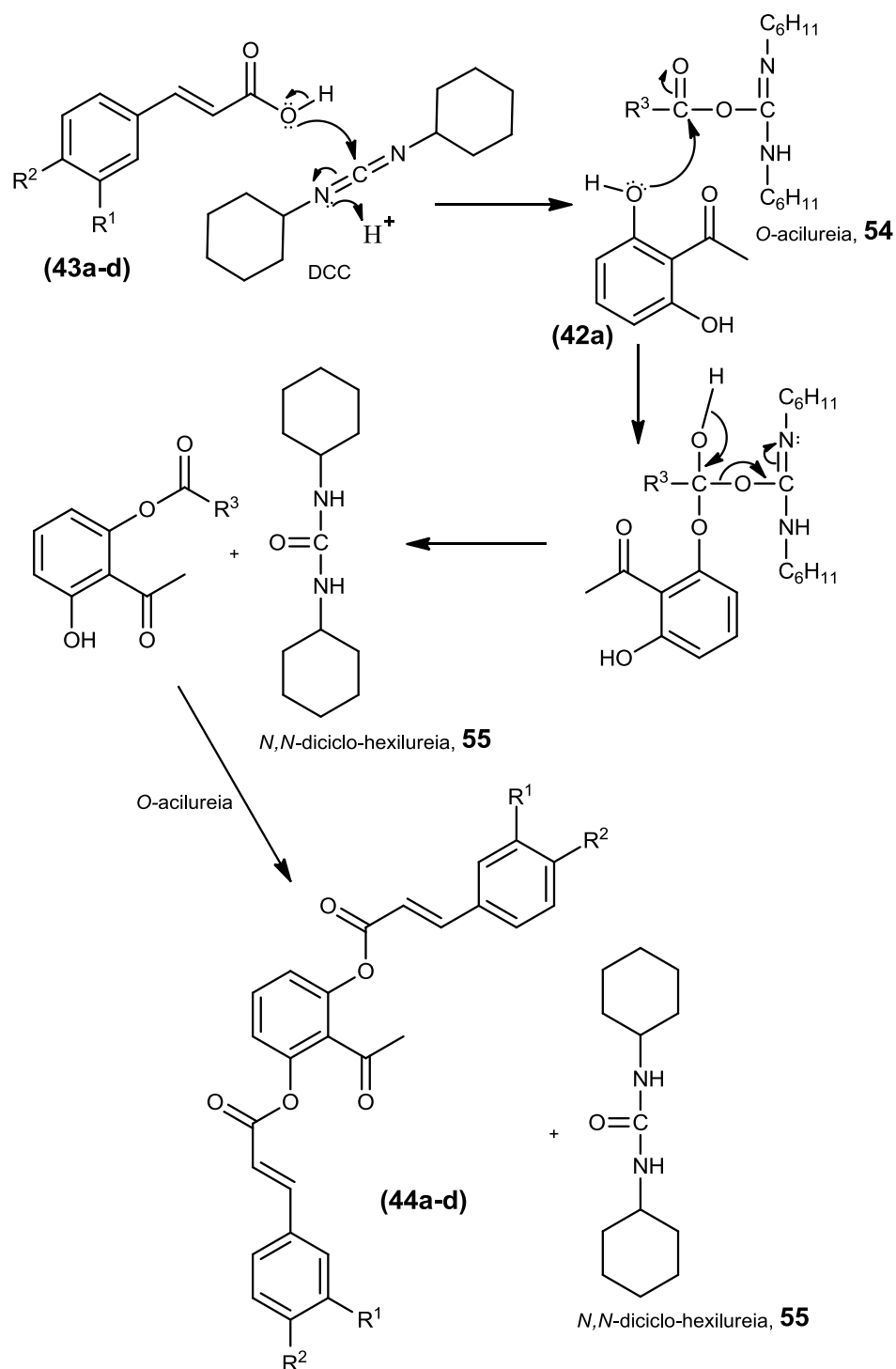
Esquema 8. Síntese de (*E,E*)-bis-3-arylacrilato de 2-acetil-1,3-fenilo (**44a-d**).

Aquando da síntese dos di-ésteres **44a-d** procedeu-se a uma reação de esterificação de Steglich utilizando-se condições reacionais já estudadas pelo nosso grupo de investigação.^[33] É uma reação típica de esterificação entre um álcool e um ácido carboxílico, na presença da *N,N*-dicio-hexilcarbodiimida (esquema 9). Partiu-se da 2',6'-di-hidroxiacetofenona **42a**, do respetivo ácido cinâmico **43a-d** e de DCC na presença de quantidades catalíticas de 4-pirrolidinopiridina (4ppy) em CH_2Cl_2 .

A DCC, utilizada como catalisador, é fundamental para a síntese destes ésteres, uma vez que ao reagir com o ácido cinâmico ativa-o, formando-se um intermediário, a *O*-acilisoureia (**54**) (esquema 9). Este ácido cinâmico ativado vai assim, mais facilmente,

sofrer ataque nucleofílico por parte dos oxigénios dos grupos hidroxilos da 2',6'-di-hidroxiacetofenona e, uma vez que a acetofenona usada tem dois grupos hidroxilo esta vai atacar dois intermediários deste tipo. A 4-pirrolodinopiridina é utilizada como co-catalisador nucleofílico, captando assim os protões libertados ao longo da reação, podendo cedê-los quando necessário.

Para além dos ésteres correspondentes, nesta reação também se forma como produto final a *N,N'*-diciclo-hexilureia **55** (esquema 9), um sólido esbranquiçado que precipita neste meio reacional e portanto é de fácil eliminação por filtração. Os di-ésteres **44a-d** foram sintetizados com rendimentos moderados a bons (60-91%).



Esquema 19. Esquema mecânico de síntese de *(E,E)*-bis-3-arilacrilato de 2-acetil-1,3-fenilo (**44a-d**).

Caracterização estrutural de (*E,E*)-bis-3-arilacrilatos de 2-acetil-1,3-fenilo

Os di-ésteres **44a-c** foram facilmente caracterizados pelos espectros de RMN de ^1H , uma vez que estes derivados já tinham sido, como mencionado anteriormente, sintetizados e caracterizados pelo nosso grupo de investigação.^[33] Quanto ao derivado **44d** a diferença mais significativa a nível de espectro de RMN de ^1H (figura 17), em relação aos derivados **44a-c**, é a presença dos sinais dos prótons dos grupos metoxilo dos anéis B e dos restantes prótons destes anéis.

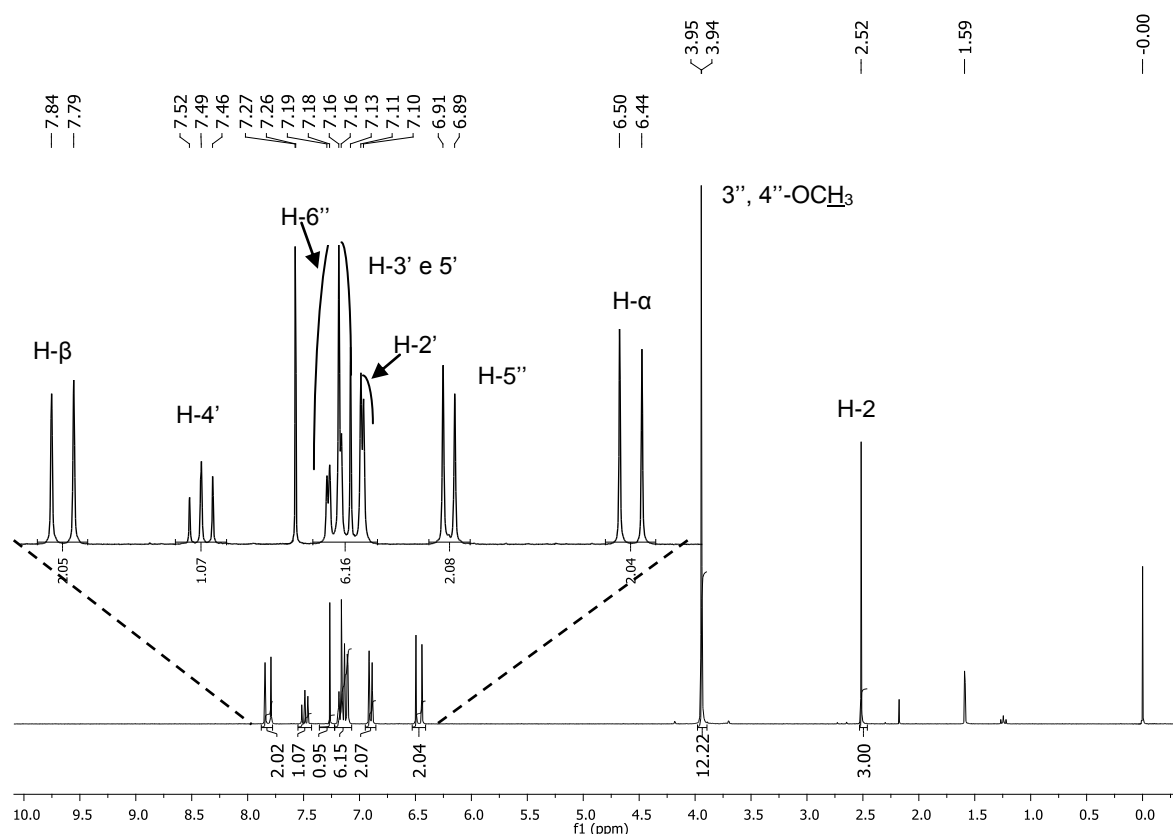


Figura 21. Espectro de RMN de ^1H do (*E,E*)-bis-[3-(3,4-dimetoxifenil)acrilato] de 2-acetil-1,3-fenilo **44d**.

Pelos desvios químicos apresentados na tabela 1 é evidente o efeito que os grupos substituintes dos anéis B e C têm na ressonância dos restantes prótons desses anéis bem como dos prótons vinílicos H-α e H-β. Estes últimos são também, e maioritariamente, afetados pelo efeito mesomérico provocado pelo grupo carbonilo que lhes é adjacente e que faz com que o H-α esteja mais protegido que o H-β e, por isso, tenha uma ressonância com valores de frequência mais baixos que este último. Estes prótons vinílicos têm sinais muito característicos, surgem no espectro por dupletos, uma vez que acoplam um com o outro, e possuem uma constante de acoplamento de

aproximadamente 16 Hz indicativa de uma configuração *trans* (*E*) destes sistemas vinílicos.

Tabela 1. Desvios químicos (δ , ppm) dos prótons dos di-ésteres **44a-d**.

| Composto | 44a | 44b | 44c | 44d |
|-----------------------|------------------------------------|---|--|--|
| H-2 | 2,51 ppm (s; 3H) | 2,51 ppm (s; 3H) | 2,50 ppm (s; 3H) | 2,52 ppm (s; 3H) |
| H-3',5' | 7,16 ppm (d; 2H; 8,3 Hz) | 7,15 ppm (d; 2H; 8,2 Hz) | 7,14 ppm (d; 2H; 8,2 Hz) | 7,15 ppm (dd; 2H; 1,6 e 8,3 Hz) |
| H-4' | 7,50 ppm (t; 1H; 8,3 Hz) | 7,49 ppm (t; 1H; 8,2 Hz) | 7,48 ppm (t; 1H; 8,2 Hz) | 7,49 ppm (t; 1H; 8,3) |
| H- α | 6,60 ppm (d; 2H; 16,0 Hz) | 6,55 ppm (d; 2H; 16,0 Hz) | 6,46 ppm (d; 2H; 16,0 Hz) | 6,47 ppm (d; 2H; 15,8 Hz) |
| H- β | 7,88 ppm (d; 2H; 16,0 Hz) | 7,85 ppm (d; 2H; 16,0 Hz) | 7,93 ppm (d; 2H; 16,0 Hz) | 7,82 ppm (d; 2H; 15,8) |
| H-2'' | 7,58 – 7,69 ppm (m; 2H) | 7,48 ppm (d; 2H; 8,1 Hz) | 7,54 ppm (d; 2H; 8,8 Hz) | 7,11 ppm (d; 2H; 1,9 Hz) |
| H-6'' | 7,58 – 7,69 ppm (m; 2H) | 7,48 ppm (d; 2H; 8,1 Hz) | 7,54 ppm (d; 2H; 8,8 Hz) | 7,17 ppm (dd; 2H; 1,9 e 8,4 Hz) |
| H-3'' | 7,41 – 7,46 ppm (m; 2H) | 7,23 ppm (d; 2H; 8,0 Hz) | 7,14 ppm (d; 2H; 8,8 Hz) | OCH ₃ – 3,94 ppm (s; 6H) |
| H-5'' | 7,41 – 7,46 ppm (m; 2H) | 7,23 ppm (d; 2H; 8,0 Hz) | 7,14 ppm (d; 2H; 8,8 Hz) | 6,90 ppm (d; 2H; 8,4 Hz) |
| Substituinte em H-4'' | H-4'' - 7,41 – 7,46 ppm (m; 2H) | 4''-CH ₃ – 2,40 ppm (s; 6H) | 4''-OCH ₃ – 3,86 ppm (s; 6H) | OCH ₃ – 3,94 ppm (s; 6H) |

Na zona aromática estão ainda os sinais relativos às ressonâncias dos prótons dos anéis B e dos seus substituintes, quando existentes. O éster **44a** não possui substituintes nestes anéis e, portanto os sinais correspondentes aos seus prótons são dois multipletos,

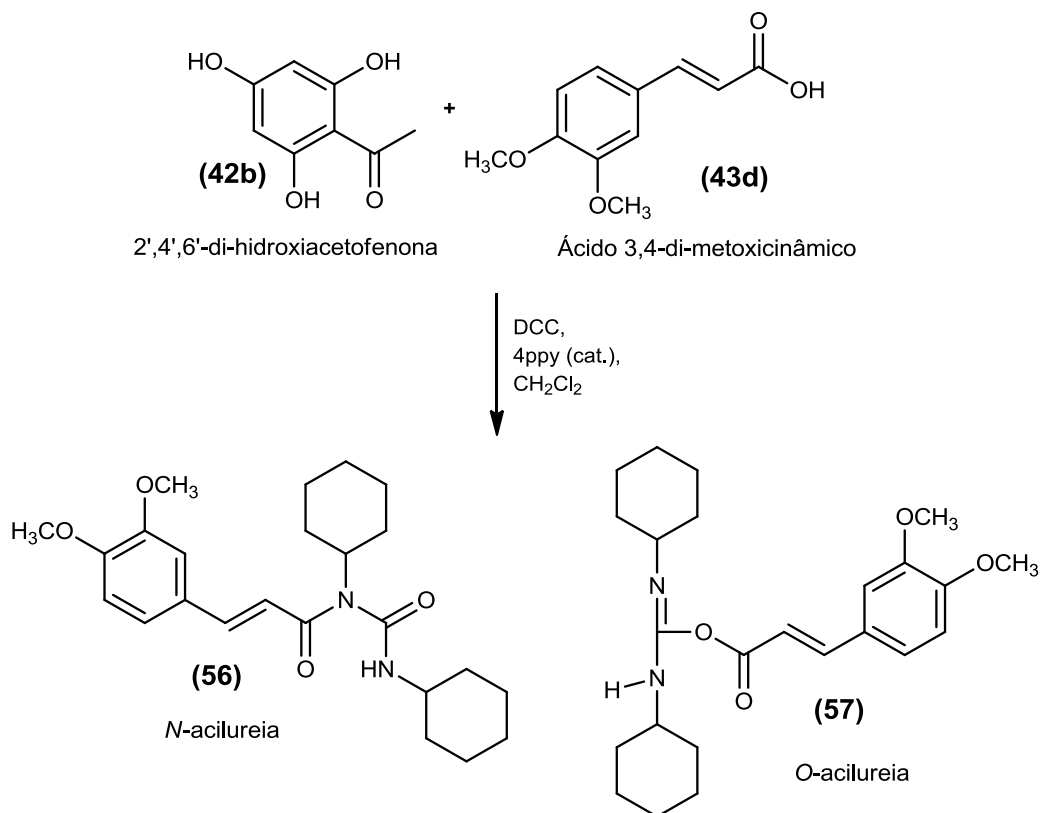
o primeiro relativo a H-3'',4'',5'' (7,41 – 7,46 ppm) e o segundo relativo a H-2'' e 6'' (7,58-7,69 ppm). Os derivados **44b** e **44c** são substituídos em H-4'', sendo no primeiro um grupo metilo e no segundo um grupo metoxilo e em ambos os sinais localizam-se a frequências baixas, 2,4 e 3,86 ppm respectivamente. Os prótons do grupo metoxilo de **44c** estão mais desprotegidos devido ao efeito sacador de eletrões do oxigénio. Dos restantes prótons destes anéis, H-2'',6'' são equivalentes assim como H-3'',5'', e as suas constantes de acoplamento rondam os 8 Hz, que corresponde ao acoplamento de prótons em posições *orto*. Quanto ao di-éster **44d** é o único di-substituído em 3'' e 4'' com dois grupos metoxilo cujas ressonâncias se localizam a baixas frequências (3,94 ppm). O próton H-2'' deste derivado acopla apenas com o próton H-6'', que lhe está em posição *meta* e daí a constante de acoplamento de aproximadamente 2 Hz.

Os prótons do grupo acetilo (H-2) e do anel A (H-3',4',5') dos quatro derivados apresentam desvios químicos muito semelhantes e por vezes iguais, o que demonstra que os substituintes dos anéis B não afetam a ressonância destes prótons. A valores baixos de frequência está o sinal em forma de singuleto correspondente aos três prótons equivalentes do grupo acetilo, H-2, entre 2,50 e 2,52 ppm. Os prótons do anel A localizam-se na zona aromática, sendo os prótons H-3' e H-5' equivalentes uma vez que acoplam ambos com H-4' e o sinal que lhes corresponde é um duplete com constante de acoplamento de cerca de 8 Hz o que corresponde à constante de acoplamento de prótons aromáticos em posição *orto*. O sinal do próton H-4' por acoplar de igual modo com H-3',5' surge como um tripleto ($J \approx 8$ Hz). Apenas o di-éster **44d** apresenta um duplo duplete como sinal correspondente aos prótons H-3',5' o que pode dever-se ao facto da molécula não ser espacialmente simétrica e por isso, estes prótons não são equivalentes acoplando com o próton H-4' mas também um com o outro com uma constante de acoplamento de ($J = 1,6$ Hz) típica de acoplamentos de prótons em anéis aromáticos em posição *meta*.

2.1.2. Síntese do (*E,E,E*)-tris-3-fenilacrilato de 2-acetil-1,3,5-fenilo

Aquando da preparação de tri-ésteres começou por se tentar a síntese deste tipo de derivados usando as condições utilizadas na síntese dos di-ésteres anteriormente referidos, isto é, esterificação de Steglich da 2',4',6'-tri-hidroxiacetofenona (**42b**) com o ácido 3,4-dimetoxicinâmico (**43d**). Fizeram-se duas tentativas com diferentes quantidades de equivalentes molares de reagentes e com diferentes tempos de reação, e em ambos os casos isolaram-se como produtos maioritários a O e N-acilureia (esquema 20, **56**) e

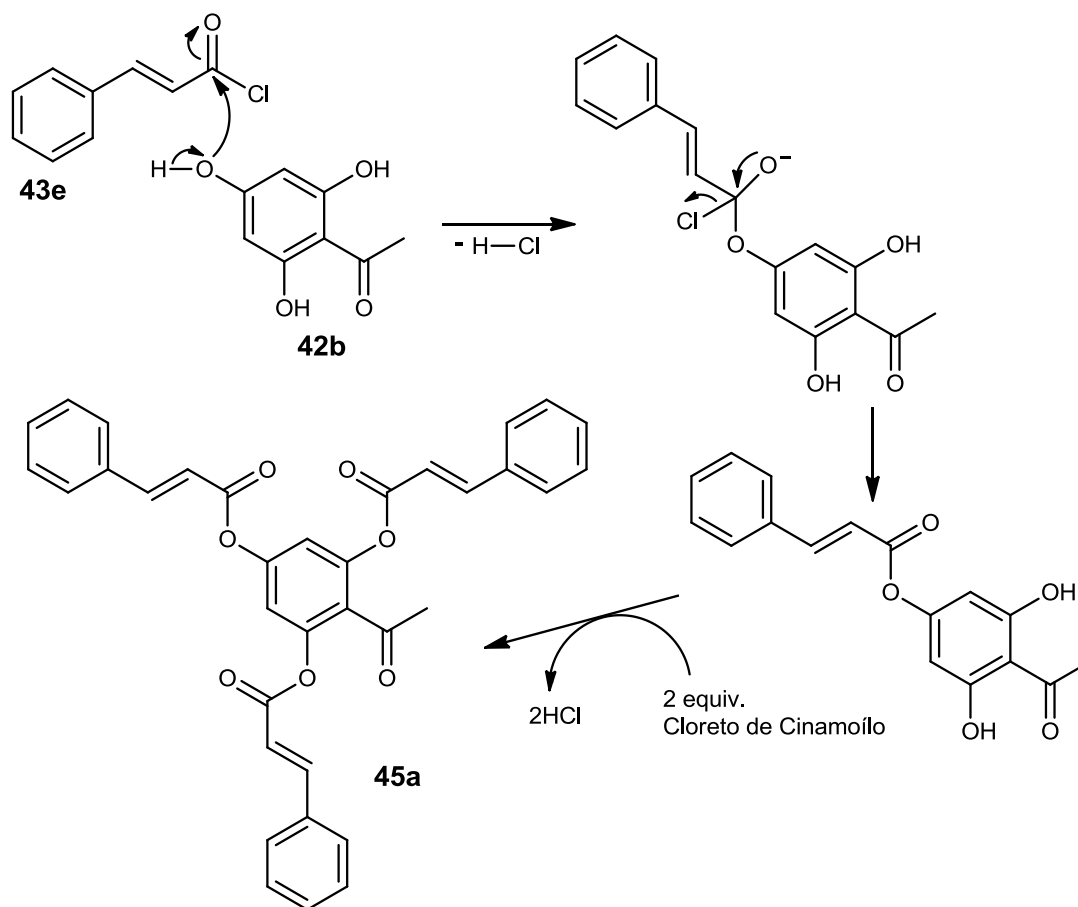
(57) respetivamente). Estes resultados levaram-nos a substituir o ácido cinâmico por um derivado mais reativo, o cloreto de cinamoílo.



Esquema 20. Síntese de tri-ésteres a partir da 2',4',6'-tri-hidroxiacetofenona (**42b**) e do ácido 3,4-metoxicinâmico (**43d**).

O éster **45a** foi obtido por uma reação de esterificação entre a 2',4',6'-tri-hidroxiacetofenona (**42b**) e o cloreto de cinamoílo (**43e**) usando piridina como catalisador e solvente. Para a formação de ésteres a partir de um cloreto de ácido e de um álcool há somente necessidade de adicionar uma base fraca, como a piridina, que atua como promotor desta reação e neutraliza o ácido clorídrico formado durante a mesma. O mecanismo proposto para esta transformação é bastante simples, uma vez que o cloreto de cinamoílo é muito reativo e o álcool facilmente reage com este obtendo-se o éster pretendido (esquema 21).

Esta reação foi seguida por TLC preparativo e ao fim de 20 horas esta foi terminada e por purificação obteve-se o (*E,E,E*)-tris-3-fenilacrilato de 2-acetil-1,3,5-tri-hidroxifenilo **45a** com um rendimento de 67%.



Esquema 21. Mecanismo de síntese de (*E,E,E*)-tris-3-fenilacrilato de 2-acetil-1,3,5-fenilo, **45a**.

Caracterização do (*E,E,E*)-tris-3-fenilacrilato de 2-acetil-1,3,5-fenilo

A análise do espectro de RMN de ^1H do tri-éster **45a** comprovou a sua síntese. A zona alifática do espectro apresenta apenas um sinal, um singuleto correspondente à ressonância dos três prótons do único grupo metilo presente na molécula, H-2 (2,53 ppm). A 6,59 e 6,60 ppm encontram-se dois dupletos com constante de acoplamento de aproximadamente 16 Hz que correspondem aos sinais dos três prótons alfa presentes no composto **45a**. O primeiro duplete tem aproximadamente o dobro do tamanho do segundo o que indica que dois dos prótons alfa são equivalentes e são eles os prótons H- α dos grupos cinamoílos ligados a C-2' e a C-6', sendo que o segundo duplete corresponde à ressonância do H- α ' do grupo cinamoílo ligado em C-4'. Os prótons beta surgem a 7,88 e 7,89 ppm, em que o primeiro corresponde à ressonância de dois prótons (H- β) e o segundo à ressonância de apenas um próton (H- β '). A zona aromática do espectro apresenta um singuleto a 7,12 ppm correspondente à ressonância dos prótons H-3' e H-5' e dois multipletos correspondentes à ressonância dos prótons dos três restantes anéis aromáticos.

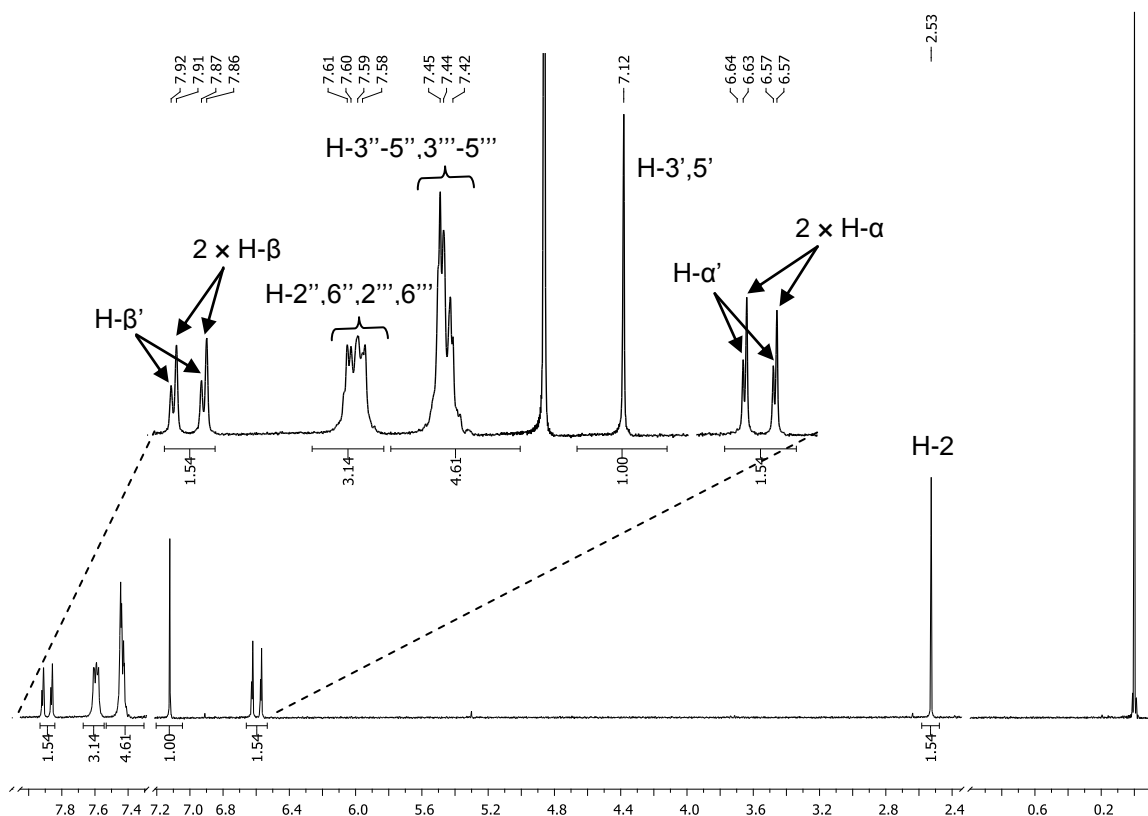


Figura 22. Espectro de RMN de ^1H de (E,E,E) -tris-3-fenilacrilato de 2-acetil-1,3,5-fenilo, **45a**.

Seguidamente tentou-se a obtenção de um derivado de tri-éster com grupos substituintes nos anéis dos grupos cinamoílo através da esterificação de Steglich, partindo da 2',4',6'-tri-hidroxiacetofenona (**42b**), 3,5 equivalentes de ácido *p*-metoxicinâmico, 3,5 equivalentes de DCC e 0,35 equivalentes de 4-pirrolidinopiridina CH_2Cl_2 . Ao fim de sete dias sob agitação, segundo o TLC preparativo o meio reacional ainda continha acetofenona, adicionou-se mais 1 equivalente do respetivo ácido cinâmico, 1 equivalente de DCC e 0,1 equivalentes de 4-pirrolodinopiridina. Passado 24 horas, por TLC preparativo, constatou-se a formação de um composto novo, adicionou-se mais 1 equivalente do respetivo ácido cinâmico, 1 equivalente de DCC e 0,1 equivalentes de 4-pirrolodinopiridina e passado três dias terminou-se a reação. Por cristalização com etanol a quente obteve-se um sólido branco que por RMN de ^1H revelou ser a *O*-acilureia (**57**).

Síntese de (E,E,E) -tris-3-[(3,4-dibenziloxifenil)-acrilato] de 2-acetil-1,3,5-fenilo

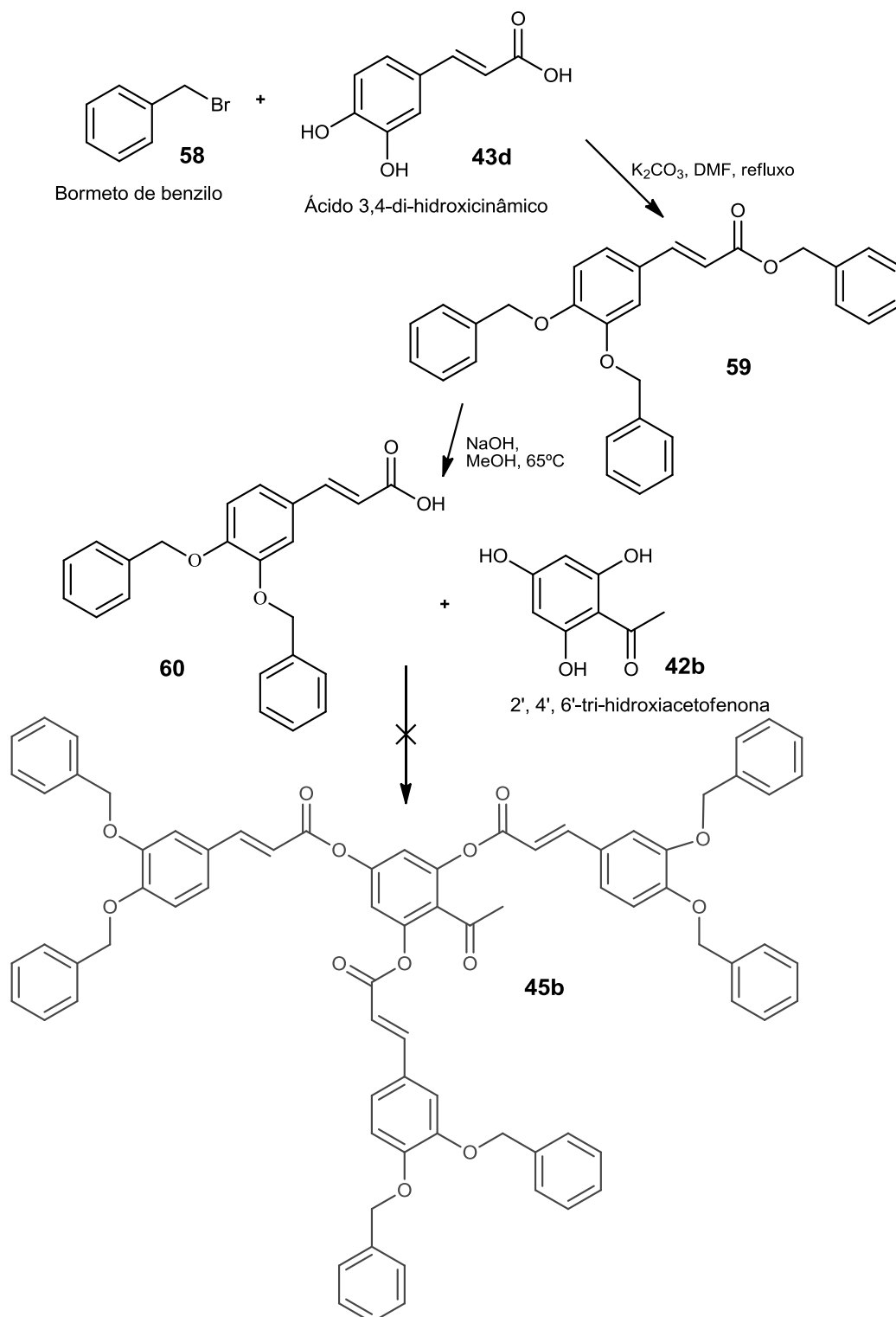
Com a finalidade de obter de produtos finais com dois grupos hidroxilo em posição *meta* e *para* nos anéis D e E das 3-cinamoíl-2-estirilcromonas, para além dos grupos

hidroxilo em C-6 e C-8 e, uma vez que em tentativas anteriores utilizando a 2',4',6'-tri-hidroxiacetofenona e o ácido 3,4-dimetoxicinâmico não se obteve o tri-éster pretendido, decidiu-se proceder à proteção dos grupos hidroxilo do ácido cinâmico com o grupo benzilo. Deste modo, planeou-se a síntese do éster (*E,E,E*)-tris-3-[(3,4-dibenziloxifenil)-acrilato] de 2-acetil-1,3,5-fenilo **45b** a partir do ácido 3,4-di-hidroxicinâmico com os grupos hidroxilo previamente protegidos com brometo de benzilo (esquema 12).

Nesta reação utilizaram-se 3,3 equivalentes de brometo de benzilo (1,1 equivalentes por cada grupo a proteger), 4,5 equivalentes de carbonato de potássio (1,5 equivalentes por cada grupo a proteger) e *N,N*-dimetilformamida como solvente. A reação foi feita à temperatura de refluxo da DMF (153°C) e o (*E*)-3-(3,4-dibenziloxifenil)acrilato de benzilo **59** purificado por cromatografia em coluna obtendo-se com um rendimento de 95%. Esta é uma reação não seletiva, ou seja, há proteção tanto dos dois grupos hidroxilos como do grupo ácido, inicia-se com a formação dos sais dos respectivos álcoois e ácido.

Uma vez que é necessário ter o ácido carboxílico disponível para a síntese do éster **45b** procedeu-se à hidrólise do éster **59** em meio básico, utilizando hidróxido de sódio aquoso 10M e metanol como solvente a quente. Esta é uma reação típica de hidrólise de ésteres em meio básico e o seu mecanismo inicia-se com o ataque nucleofílico do ião hidróxido (do hidróxido de sódio) ao carbono carbonílico com formação do intermediário tetraédrico. Seguidamente restabelece-se a hibridação sp^2 do carbono carboxílico por eliminação do alcóxido benzílico e forma-se o ácido (*E*)-3-(3,4-dibenziloxifenil)acrílico **60** com um rendimento de 69%.

Obtém-se assim o ácido cinâmico protegido **60** que será o reagente de partida na esterificação de Steglich. Adiciona-se este ácido **60** à 2',4',6'-tri-hidroxiacetofenona, DCC e 4-pirrolidinopiridina em CH_2Cl_2 , e ao fim de 12 dias o produto maioritário obtido foi o di-éster **45c** (figura 23).



Esquema 12. Síntese do (*E,E,E*)-tris-3-[(3,4-dibenziloxifenil)acrilato] de 2-acetil-1,3,5-fenilo **45b**.

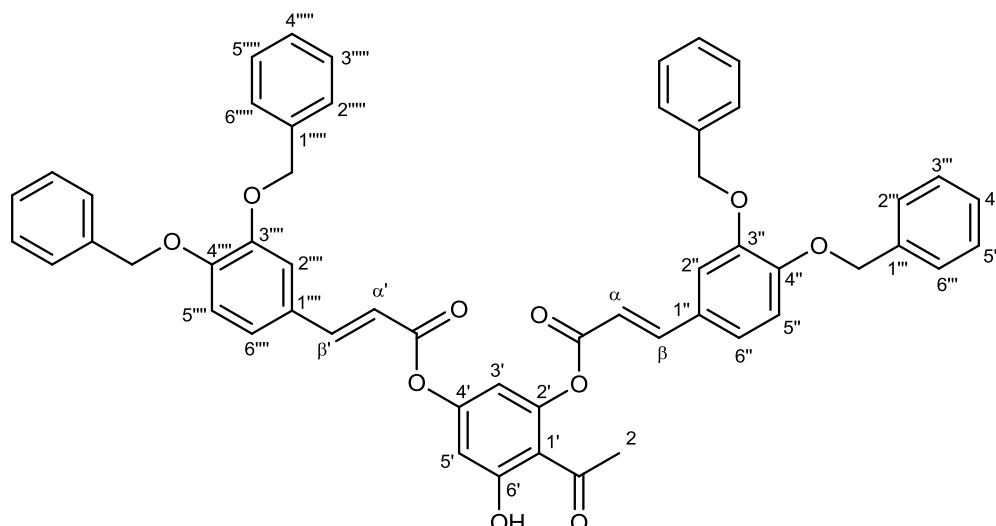


Figura 23. (*E,E*)-Bis-3-[(3,4-dibenziloxifenil)acrilato] de 2-acetil-3-hidroxi-1,5-fenilo, **45c**.

Repetiu-se a reação, partindo dos mesmos reagentes e usando os mesmos equivalentes molares de cada um. Ao final de 9 dias adicionou-se 1 equivalente do ácido (*E*)-3-(3,4-dibenziloxifenil)acrílico, 1 equivalente de DCC e 0,1 equivalentes de 4-pirrolidinopiridina, deixou-se reagir por mais 10 dias, ao longo dos quais a reação era controlada por TLC preparativo e apresentava como produto maioritário o di-éster, adicionou-se mais 1 equivalente molar do ácido (*E*)-3-(3,4-dibenziloxifenil)acrílico, 1 equivalente de DCC e 0,1 equivalentes de 4-pirrolidinopiridina. A mistura reacional continuou sob agitação por mais quatro dias e ao fim deste tempo terminou-se a reação, os produtos maioritários obtidos foram a *O*-acilureia (**57**) e o ácido (*E*)-3-(3,4-dibenziloxifenil)acrílico, o qual tinha sido adicionado em muito excesso.

Fez-se uma nova tentativa de síntese do tri-éster **45b**, mas com intervalos menores entre cada adição de reagentes. Assim, inicialmente adicionaram-se à 2',4',6'-tri-hidroxiacetofanona, 3 equivalentes de ácido (*E*)-3-(3,4-dibenziloxifenil)acrílico, 3 equivalentes de DCC e 0,3 equivalentes de 4-pirrolidinopiridina, ao fim de 3 dias adicionou-se mais 1 equivalente de ácido (*E*)-3-(3,4-dibenziloxifenil)acrílico, 1 equivalente de DCC e 0,1 equivalentes de 4-pirrolidinopiridina, passado mais três dias adicionaram-se as mesmas quantidades e de novo ao final de 6 dias. Terminou-se a reação 6 dias depois da última adição e o composto maioritário obtido foi a *O*-acilureia (**57**). Destas três tentativas pode concluir-se que a adição de pequenas quantidades de reagentes ao longo do tempo não promove a formação do tri-éster protegido pretendido.

Na primeira tentativa, em que se obteve o di-éster protegido **45c**, apesar de tudo foi a mais satisfatória, uma vez que se poderá tentar a esterificação do restante grupo

hidroxilo e obter assim o composto pretendido. A formação do di-éster **45c** em detrimento do tri-éster **45b** pode dever-se ao facto de aquando da esterificação dos grupos hidroxilo de C-1 e C-3 o grupo hidroxilo em C-5 estabelecer uma forte ligação de hidrogénio com o oxigénio do grupo carbonilo. O estabelecimento desta ligação de hidrogénio em adição ao impedimento estérico provocado pelos grupos volumosos em C-1 e C-3, poderá dificultar o ataque nucleofílico do ácido cinâmico **60**, impedindo assim a esterificação do grupo hidroxilo remanescente.

O mecanismo de formação deste di-éster **45c** é idêntico ao mecanismo de formação dos di-ésteres **44a-d** (esquema 9).

Caracterização do (*E,E*)-bis-3-[(3,4-dibenziloxifenil)acrilato] de 2-acetil-3-hidroxi-1,5-fenilo

Através da análise do espectro de RMN de ^1H do di-éster **45c** observam-se o sinal em forma de singuleto a 13,02 ppm indicativo da presença de um grupo hidroxilo, dois dupletos próximos de 6,4 ppm (H- α) e outros dois próximos de 7,7 ppm (H- β), cada um com integral correspondente a um protão, o que denunciou a presença do di-éster **45c**. A presença dois dos sinais em forma dupletos, na zona aromática do espectro, com constante de acoplamento de 2,3 Hz (6,59 e 6,76 ppm), indica a presença de protões aromáticos em posição *meta* (H-2 e H-6). Na zona aromática existem três multipletos, os dois primeiros entre 6,93 e 6,97 ppm e 7,11 e 7,17 ppm correspondentes aos protões H-2',5',6',2'',5''' e 6''' e o terceiro entre 7,32 e 7,48 ppm correspondente às ressonâncias dos protões H-2''-6'' e H-2'''-6'''.

Na zona alifática deste espectro existe um singuleto a 2,61 ppm com integral correspondente a três protões devido aos protões do grupo metilo cetónico. Estão ainda presentes quatro singuletos entre 5,20 e 5,24 ppm correspondentes às ressonâncias dos protões dos grupos benziloxilos.

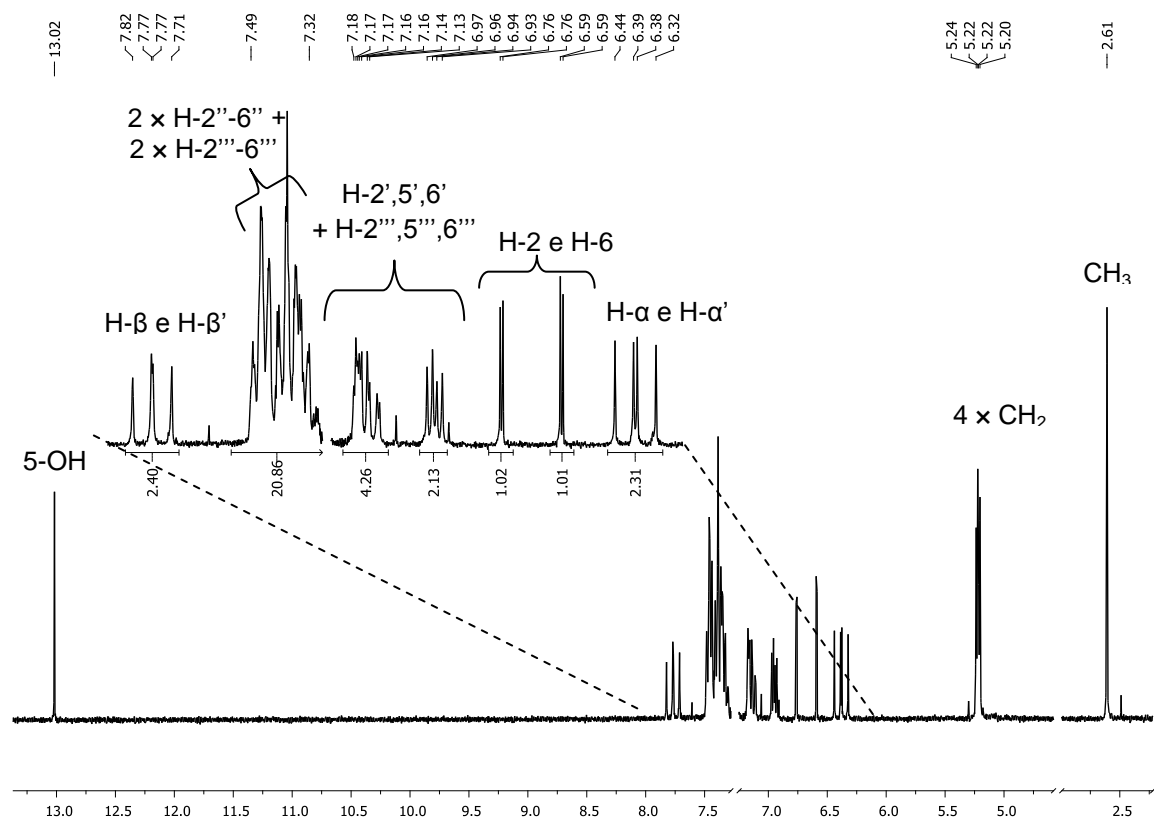
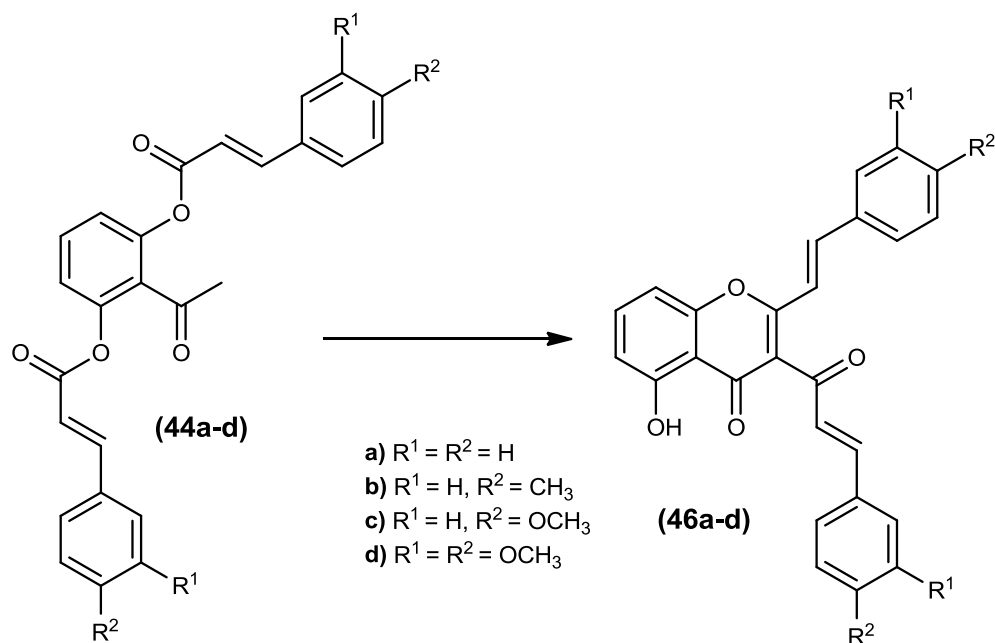


Figura 24. Espectro de RMN de ^1H de (*E,E*)-bis-3-[(3,4-dibenziloxifenil)acrilato] de 2-acetil-3-hidroxi-1,5-fenilo), **45c**.

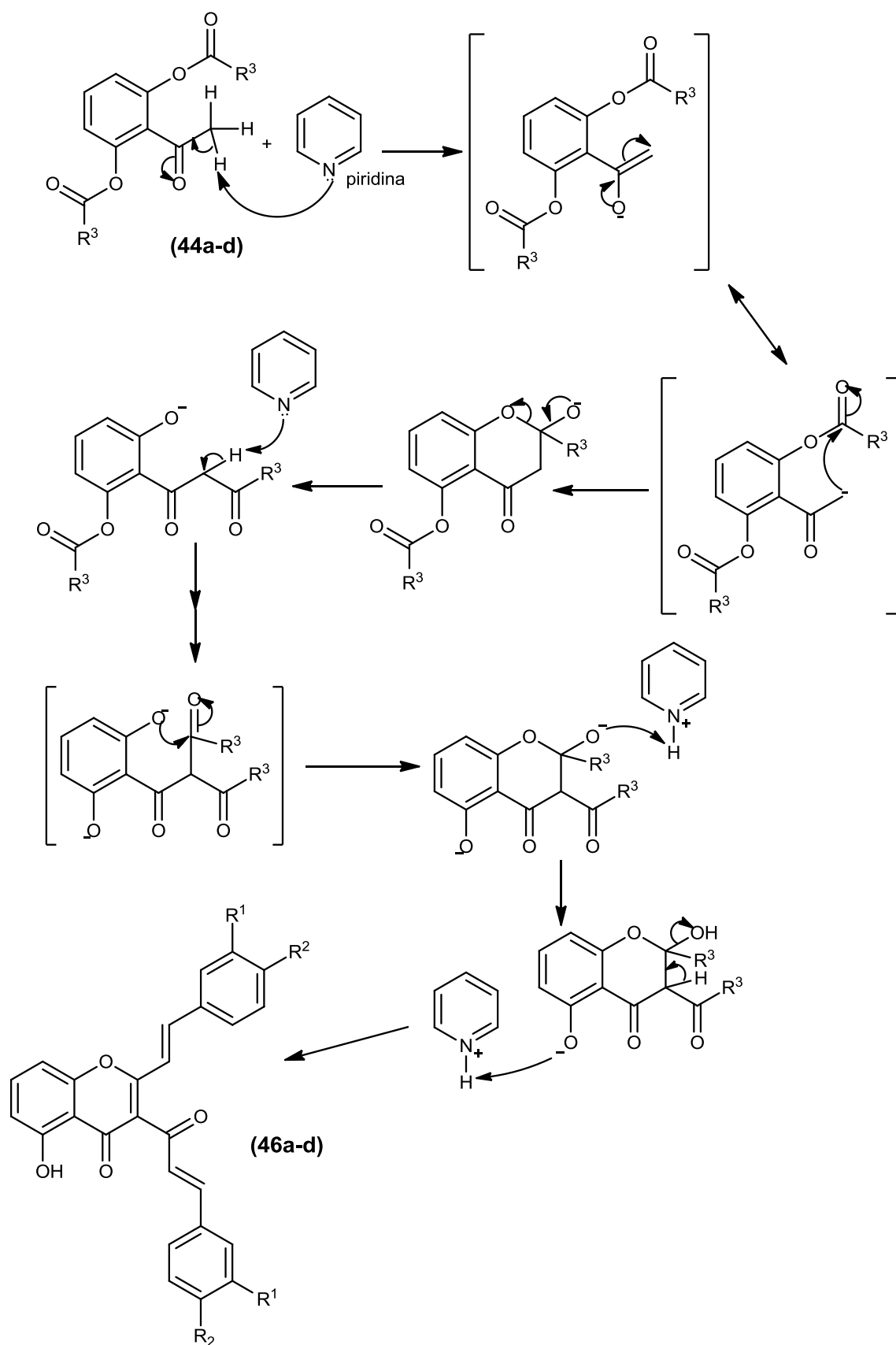
2.2. Síntese de (*E,E*)-3-cinamoíl-5-hidroxi-2-estirilcromonas

A síntese dos derivados **46a-c** já foi reportada, mas no presente trabalho o método utilizado foi modificado, ao invés do aquecimento convencional utilizou-se irradiação com micro-ondas como fonte de energia, o que permitiu reduzir o tempo de reação de 1 hora para 17 minutos, após otimização das condições.^[33] O composto **46d** foi sintetizado utilizando estas mesmas condições, ou seja, carbonato de potássio em piridina seca sob irradiação com micro-ondas com uma potência de 400W.



Esquema 13. Síntese de (*E,E*)-3-cinamoíl-5-hidroxi-2-estirilcromonas, **46a-d**.

O método utilizado é o método de Baker-Venkatarman modificado que permite a síntese de (*E,E*)-3-cinamoíl-5-hidroxi-2-estirilcromonas por dois passos, o primeiro já foi anteriormente discutido e consiste na formação dos ésteres cinâmicos **44a-d** e o segundo passo, que é catalisado pela base piridina, envolve transposições de grupos cinamoílo e consequente formação de intermediários do tipo 2,2-dicinnamoíl-2',6'-di-hidroxiacetofenonas que sofrem posterior desidratação, dando origem às (*E,E*)-3-cinamoíl-5-hidroxi-2-estirilcromonas (**46a-d**) (esquema 14). Os derivados **46a-d** foram obtidos com rendimentos bons a muitos bons (64-81%).



Esquema 14. Mecanismo da síntese de (*E,E*)-3-cinamoíl-5-hidroxi-2-estirilcromonas, **46a-d**.

Caracterização de (*E,E*)-3-cinamoíl-5-hidroxi-2-estirilcromonas

Estas quatro (*E,E*)-3-cinamoíl-2-estirilcromonas **46a-d** diferem apenas nos substituintes dos anéis C e D, pelo que as principais diferenças dos seus espectros de RMN de ^1H e de ^{13}C são, tal como nos ésteres **44a-d**, devidos aos sinais dos substituintes (localizados entre 2 e 4 ppm), uma vez que os restantes prótons e carbonos são muito similares (tabela 2). Na zona alifática dos espectros de RMN de ^1H a cromona **46b** apresenta um sinal correspondente aos prótons do grupo metilo a 2,40 ppm e os derivados **46c** e **46d** possuem sinais a 2,38 e 3,93 ppm correspondentes aos prótons dos grupos metoxilos em 3'' e/ou 4''.

Tabela 2. Desvios químicos (δ , ppm) dos prótons das (*E*)-3-cinamoíl-5-hidroxi-2-estirilcromonas, **46a-d**.

| Composto | 46a | 46b | 46c | 46d |
|-------------|--------------------------------|--------------------------------------|---------------------------------------|---|
| H-6 | 6,85 (dd; 1H, 0,7 e 8,4 Hz) | 6,84 (dd; 1H, 0,8 e 8,4 Hz)) | 6,83 (dd; 1H, 0,8 e 8,4) | 6,84 (dd; 1H, 0,7 e 8,4 Hz) |
| H-7 | 7,59 (m) | 8,29 (t; 1H; 8,4 Hz) | 7,56 (t; 1H; 8,4 Hz) | 7,59 (t; 1H; 8,4 Hz) |
| H-8 | 7,04 (dd; 1H, 0,7 e 8,4 Hz) | 7,01 (dd; 1H; 0,8 e 8,4 Hz) | 7,00 (dd; 1H; 0,8 e 8,4 Hz) | 7,02 (dd; 1H; 0,7 e 8,4 Hz) |
| H- α | 7,17 (d; 1H; 15,9 Hz) | 7,10 (d; 1H; 15,9 Hz) | 7,10 (d; 1H; 15,9 Hz) | 6,90 (d; 1H; 15,8 Hz) |
| H- β | 7,81 (d; 1H; 15,9 Hz) | 7,78 (d; 1H; 15,9 Hz) | 7,75 (d; 1H; 15,9 Hz) | 7,75 (d; 1H; 15,8 Hz) |
| H-2' | 7,59 (m; 5H) | 7,53 (d; 2H; 8,4 Hz) | 6,92 (dd; 4H; 1,5 e 8,0 Hz) | 7,07 (d; 1H; 1,8 Hz) |
| H-3' | 7,40 (m; 7H) | 7,38 (d; 4H; 8,4 Hz) | 7,57 (dd; 4H; 1,5 e 8,0 Hz) | 3'-OCH ₃ – 3,93 (s; 4 × 3H) |
| H-4' | 7,41 – 7,46 (m; 3H) | 4'-CH ₃ – 2,38 (s; 6H) | 4'-OCH ₃ – 3,85 (s; 6H) | 4'-OCH ₃ – 3,93 (s; 4 × 3H) |

| | | | | |
|-------|----------------------|---------------------------------------|--|--|
| H-5' | 7,40 (m; 7H) | 7,38 (d; 4H; 8,4 Hz) | 7,57 (dd; 4H; 1,5 e 8,0 Hz) | 6,89 (d; 1H; 8,3 Hz) |
| H-6' | 7,59 (m; 65H) | 7,53 (d; 2H; 8,4 Hz) | 6,92 (dd; 4H; 1,5 e 8,0 Hz) | 7,20 (dd; 2H; 1,8 e 8,3 Hz) |
| H-α' | 7,24 (d; 16,0 Hz) | 7,19 (d; 1H; 16,0 Hz) | 7,11 (d; 1H; 16,0 Hz) | 7,10 (d; 1H; 15,9 Hz) |
| H-β' | 7,70 (d; 16,0 Hz) | 7,66 (d; 1H; 16,0 Hz) | 7,64 (d; 1H; 16,0 Hz) | 7,62 (d; 1H; 15,9 Hz) |
| H-2'' | 7,59 (m; 7H) | 7,55 (d; 2H; 16,0 Hz) | 6,92 (dd; 4H; 1,5 e 8,0 Hz) | 7,13 (d; 1H; 1,8 Hz) |
| H-3'' | 7,40 (m; 7H) | 7,38 (d; 4H; 8,4 Hz) | 7,57 (dd; 4H; 1,5 e 8,0 Hz) | 3''-OCH ₃ – 3,93 (s; 4 × 3H) |
| H-4'' | 7,40 (m; 7H) | 4''-CH ₃ – 2,38 (s; 6H) | 4''-OCH ₃ – 3,85 (s; 6H) | 4''-OCH ₃ – 3,93 (s; 4 × 3H) |
| H-5'' | 7,40 (m; 7H) | 7,38 (d; 4H; 8,4 Hz) | 7,57 (dd; 4H; 1,5 e 8,0 Hz) | 6,88 (d; 1H; 8,3 Hz) |
| H-6'' | 7,59 (m; 5H) | 7,55 (d; 2H; 16,0 Hz) | 6,92 (dd; 4H; 1,5 e 8,0 Hz) | 7,20 (dd; 2H; 1,8 e 8,3 Hz) |

Todos os derivados apresentam o grupo 5-hidroxilo na mesma posição e o desvio químico deste sinal encontra-se na zona do espectro mais desprotegida, entre 12,4 e 12,5 ppm dependendo do derivado. Os sinais dos restantes protões localizam-se zona aromática, entre 6,83 ppm e 7,78 ppm, são relativos a protões aromáticos e aos protões alfa e beta, todos eles foram facilmente identificados uma vez que os protões são os mesmos que os existentes nos ésteres **44a-d** (figuras 25 e 26).

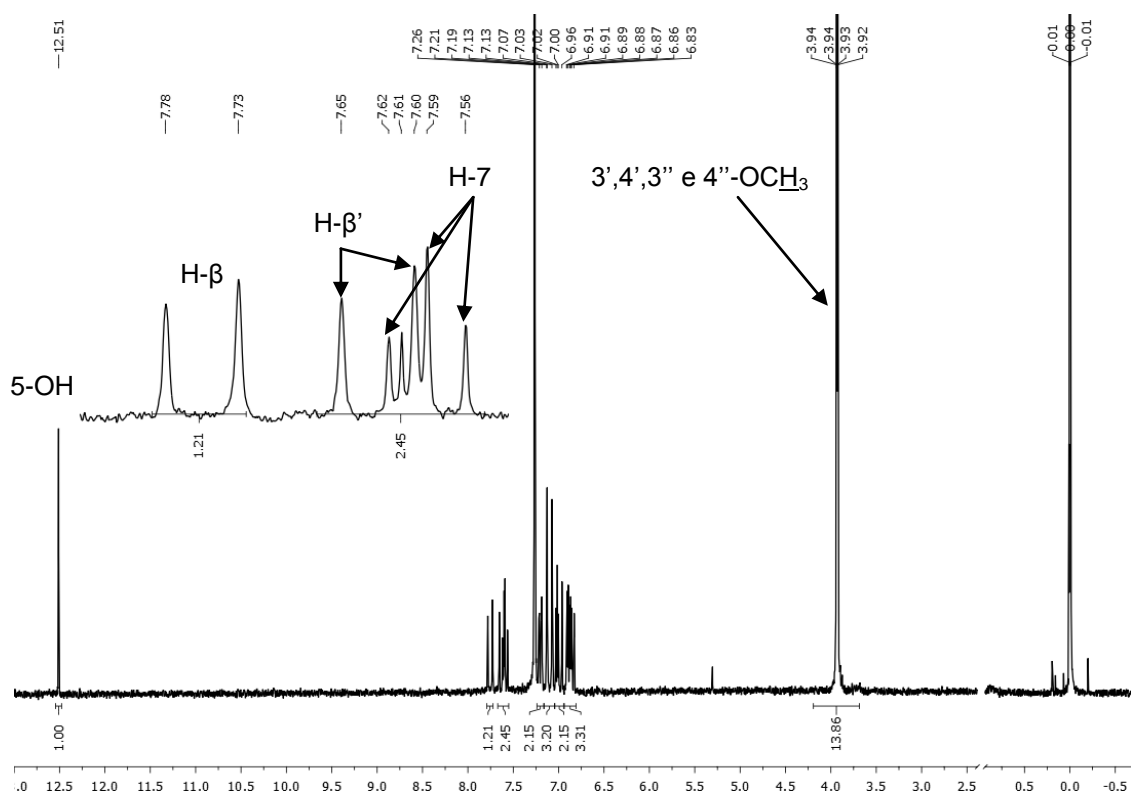


Figura 25. Espectro de RMN de ^1H da (*E,E*)-5-hidroxi-3',4'-di-metoxi-3-(3,4-di-metoxicinamoi)-2-estirilcromona **46d**.

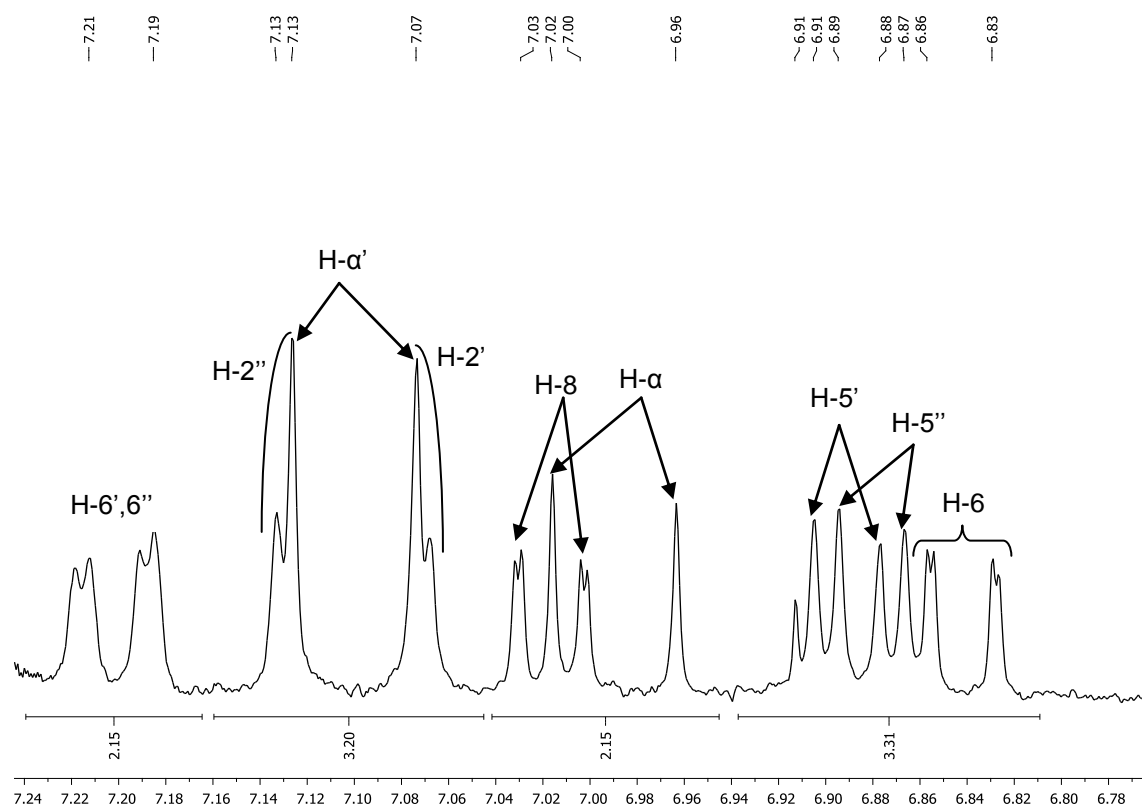
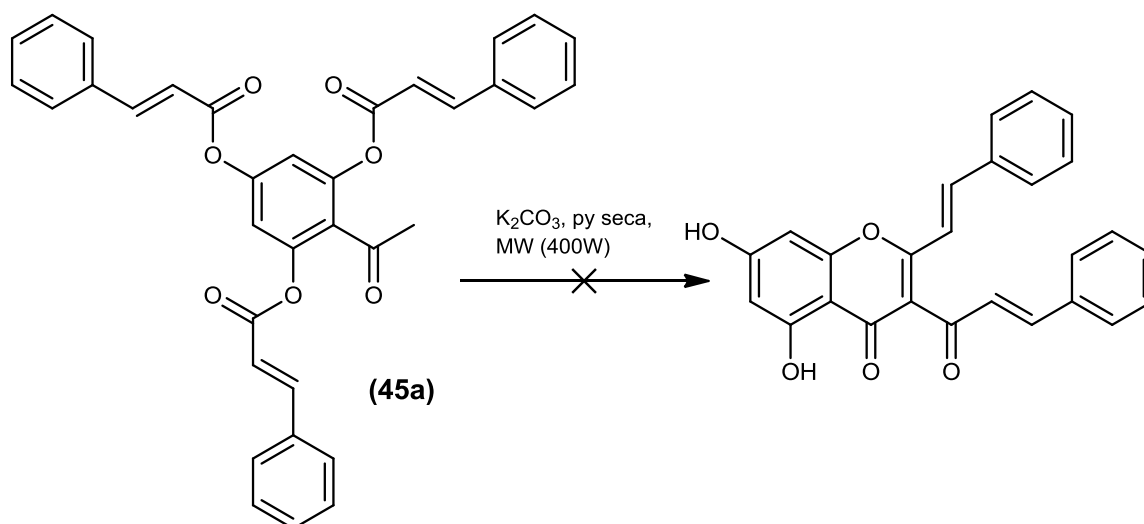


Figura 26. Expansão do espectro de RMN de ^1H da (*E,E*)-5-hidroxi-3',4'-di-metoxi-3-(3,4-di-metoxicinamoi)-2-estirilcromona **46d**.

Síntese da (*E,E*)-3-cinamoíl-5,7-di-hidroxi-2-estirilcromona

O método de síntese utilizado para a obtenção desta cromona foi o mesmo que o utilizado para a síntese das (*E,E*)-3-cinamoíl-5-hidroxi-2-estirilcromonas (K_2CO_3 , py seca e irradiação com micro-ondas (potência de 400W), durante 17 minutos).



Esquema 14. Síntese da (*E,E*)-3-cinamoíl-5-hidroxi-2-estirilcromona **46e**.

Obteve-se uma mistura e a purificação do composto maioritário foi bastante demorada, uma vez que o composto em questão apresenta uma polaridade elevada. O espectro de RMN de 1H revelou que o composto que se formou em maior quantidade foi a (*E,E,E*)-3-cinamoíl-7-(3-fenilacrilóil)-5-hidroxi-2-estirilcromona **46e**. Repetiu-se a reação, mas agora aumentou-se o tempo de 17 para 25 minutos. Verificou-se um aumento nos compostos formados, mas também um aumento do composto maioritário que continua a ser a (*E,E,E*)-3-cinamoíl-7-(3-fenilacrilóil)-5-hidroxi-2-estirilcromona **46e**. Conseguiu-se fazer cristalização de uma porção com etanol a quente, mas houve uma quantidade considerável que não se conseguiu purificar, nem mesmo por placas devido à elevada polaridade. Deste modo obtiveram-se 33% de **46e** em relação ao éster de partida utilizado.

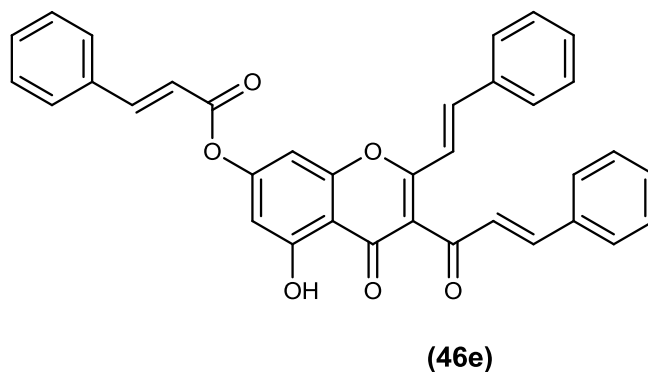


Figura 27. Estrutura molecular da (*E,E,E*)-3-cinamoíl-7-(3-fenilacrilóil)-5-hidroxi-2-estirilcromona **46e**.

Caracterização da (*E,E,E*)-3-cinamoíl-7-(3-fenilacrilóil)-5-hidroxi-2-estirilcromona

Aquando da reação de transposição e ciclização do tri-éster **45a** não se obteve a cromona pretendida, mas sim a (*E,E,E*)-3-cinamoíl-7-(3-fenilacrilóil)-5-hidroxi-2-estirilcromona **46e**.

No espectro de RMN de ^1H desta cromona existe um sinal correspondente a um protão de um grupo hidroxilo, mas o composto esperado teria sinais de dois grupos hidroxilos. Este facto indica que a cromona obtida não teria sofrido hidrólise do grupo 7-cinamoíloxilo, o que se confirmou com os integrais dos restantes sinais correspondentes a um grupo estirilo em C-2, um grupo cinamoílo em C-3 e um grupo cinamoíloxilo em C-7. Assim, e pelo espectro apresentado, o composto sintetizado possui, três protões alfa ($\delta = 6,65, 7,13$ e $7,24$ ppm) e três protões beta ($\delta = 7,69, 7,79$ e $7,93$ ppm) confirmados pelo seu valor de constante de acoplamento, que ronda os 16 Hz (figura 28). Os dois dupletos pequenos, a 6,69 e 7,02 ppm, são relativos aos protões H-6 e H-8, uma vez que a constante de acoplamento correspondentes de 2,1 Hz é característica de protões que acoplam em posições *meta* num anel aromático. Os restantes dois sinais localizam-se na zona aromática do espectro e são multipletos, em que o primeiro possui um integral correspondente a 6 protões, os protões *orto* dos três anéis aromáticos dos grupos substituintes da cromona, e o segundo possui um integral correspondente a 9 protões, os protões *meta* e *para* dos mesmos anéis aromáticos.

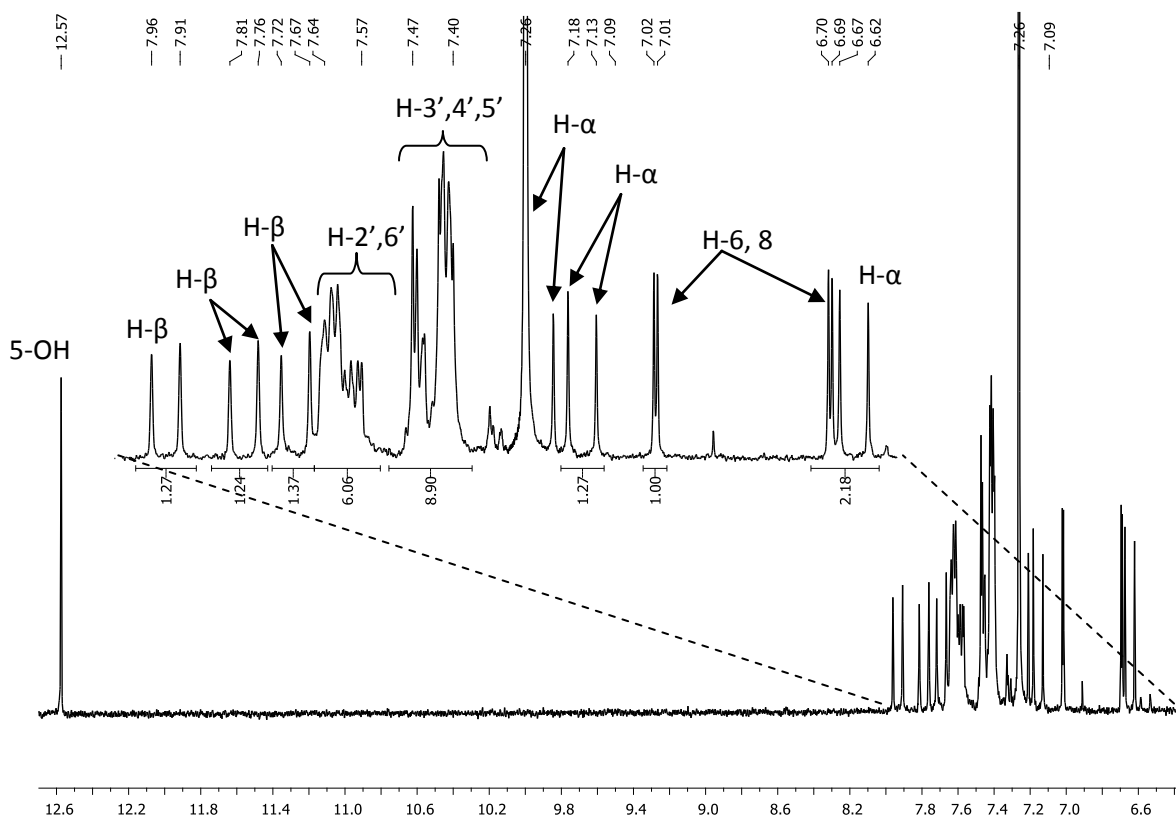
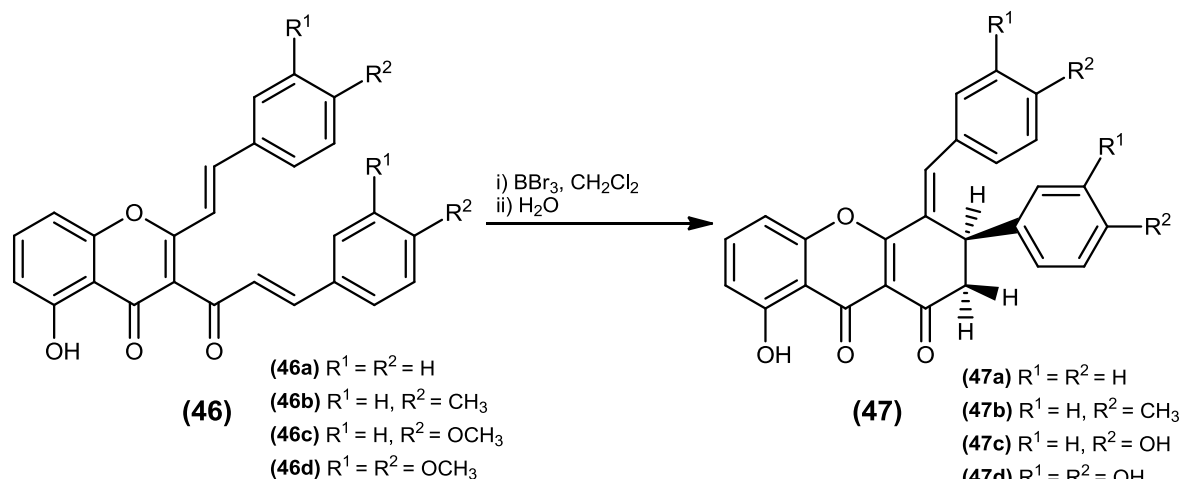


Figura 28. Espectro de RMN ^1H da (*E,E,E*)-3-cinamoíl-7-(3-fenilacrilóil)-5-hidroxi-2-estirilcromona, **46e**.

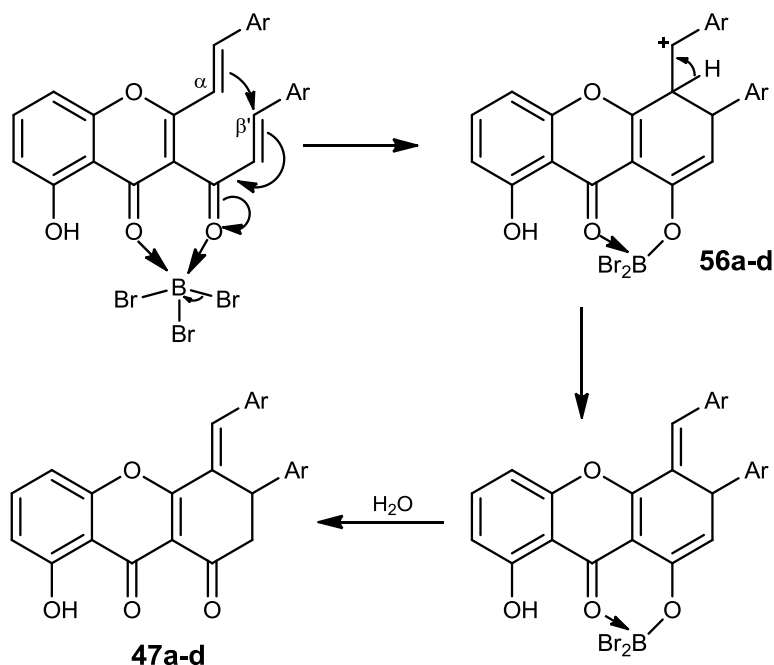
2.3. Síntese de (*E*)-3-aryl-4-benzilideno-1*H*-xantene-1,9(2*H*)-dionas

Após a síntese da (*E,E*)-5-hidroxi-3',4'-di-metoxi-(3-(3,4-di-metoxicinamoíl)-2-estirilcromona **46d** pretendia-se fazer a desproteção dos grupos hidroxilo utilizando um método comumente usado neste tipo de reações e já amplamente usado no nosso grupo de investigação. O método consiste na adição de tribrometo de boro a -80°C ao composto a desproteger seguida de agitação à temperatura ambiente durante algumas horas e lavagem com água destilada. A aplicação deste procedimento na desproteção dos grupos hidroxilos da (*E*)-2-estirilcromona **46d** demonstrou, através da caracterização por RMN, que ocorreu a pretendida desproteção mas também a ciclização em (*E*)-4-(3,4-di-hidroxibenzilideno)-3-(3,4-di-hidroxifenil)-3,4-di-hidro-1*H*-xantene-1,9(2*H*)-diona **47d**. Uma vez que as xantedionas possuem propriedades biológicas importantes testou-se a aplicabilidade do método a outros derivados.^[33]



Esquema 16. Esquema de síntese de (*E*)-3-*aril*-4-benzilideno-8-hidroxi-3,4-di-hidro-1*H*-xantene-1,9(2*H*)-dionas, **47a-d**.

O mecanismo proposto para a formação das xantenedionas **46a-d** inicia-se com a ativação das (*E,E*)-3-cinamoil-5-hidroxi-2-estirilcromonas **44a-d**, pela quelação com o tribrometo de boro e formação do intermediário **56** através de uma reação do tipo adição de Michael, em que há uma adição conjugada com formação de uma ligação carbono-carbono entre C- α e C- β' . Após ciclização há a quebra da ligação oxigênio-boro e formação das xantenedionas **47a-d** após a adição de água (esquema 17).



Esquema 17. Proposta mecanística para a síntese de (*E*)-3-*aril*-4-benzilideno-8-hidroxi-3,4-di-hidro-1*H*-xantene-1,9(2*H*)-dionas, **47a-d**.

Por cristalização foram obtidas as xantenedionas **47a-d**, todas com tonalidades de amarelo, com rendimentos moderados a muito bons (53-89%).

Caracterização de (*E*)-3-aryl-4-benzilideno-8-hidroxi-3,4-di-hidro-1*H*-xantene-1,9(2*H*)-dionas

A caracterização estrutural das (*E*)-3-aryl-4-benzilideno-8-hidroxi-3,4-di-hidro-1*H*-xantene-1,9(2*H*)-dionas **47a-d**, em particular da xantenediona **47d** foi dificultada pelo facto de não ser este o composto esperado aquando da desproteção de **46d**. Deste modo precisou recorrer-se aos espectros de NOESY e COSY para além dos já habitualmente obtidos espectros de RMN de ^1H , ^{13}C , HMBC e HSQC.

Primeiramente, teve-se em conta os cinco sinais presentes na zona mais desprotegida do espectro, nomeadamente os que têm valores superiores a δ 8,60 ppm, uma vez que dizem respeito a protões de grupos hidroxilos. O sinal mais desprotegido, a δ 12,77 ppm corresponde à ressonância do protão do grupo hidroxilo presente em C-8, uma vez que este estabelece uma ponte de hidrogénio com o átomo de oxigénio do grupo carbonilo adjacente. Os restantes quatro protões dizem respeito aos grupos hidroxilos que sofreram desproteção com a reação efetuada. Estes últimos foram atribuídos com recurso aos espectros de HSQC e HMBC (figuras 29 e 30, setas azuis).

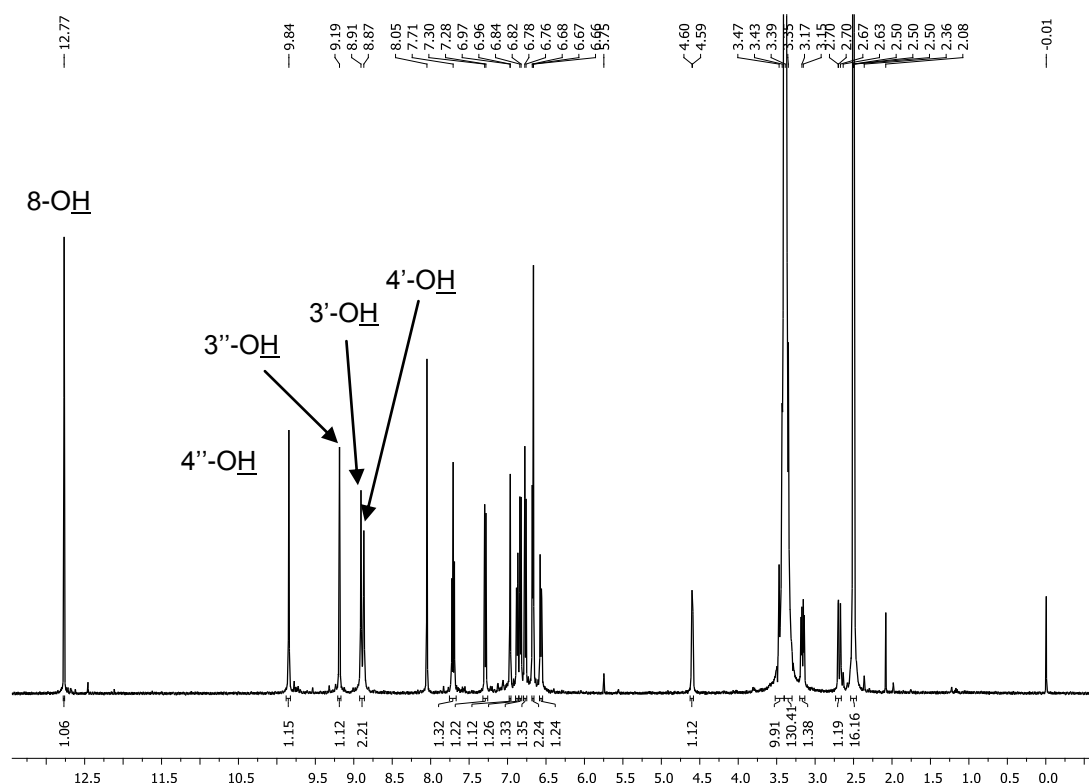


Figura 29. Espectro de RMN de ^1H da (*E*)-8-hidroxi-4-(3,4-di-hidroxibenzilideno)-3-(3,4-di-hidroxifenil)-3,4-di-hidro-1*H*-xantene-1,9(2*H*)-diona (**47d**).

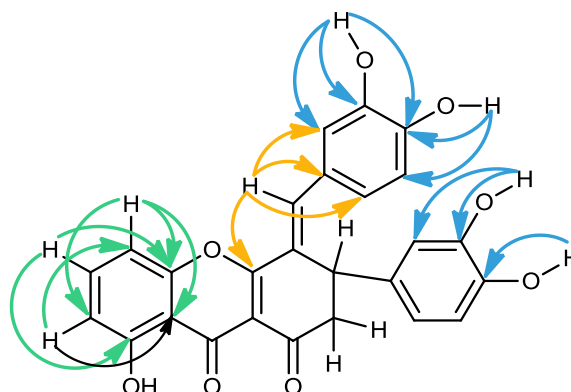


Figura 30. Correlações apresentadas no espectro de HMBC da (*E*)-8-hidroxi-4-(3,4-di-hidroxibenzilideno)-3-(3,4-di-hidroxifenil)-3,4-di-hidro-1*H*-xantene-1,9(2*H*)-diona (**47d**).

Verificou-se também que no espectro de ^1H não existiam sinais com constantes de acoplamento que rondassem os 16 Hz, ou seja, os sinais correspondentes aos prótons vinílicos dos grupos estirilo e cinamoílo, o que significa os compostos formados não possuem este tipo de prótons e por isso estes sofreram algum tipo de transformação.

Uma vez que os anéis aromáticos são estruturas muito estáveis pensou-se que não deveriam ter sofrido grandes alterações, bem como o anel pirano. Assim, verificou-se a zona aromática do espectro e o único sinal em comum entre o espectro de RMN de ^1H deste composto e da 2-estirilcromona **46d** é um tripleto a δ 7,71 ppm com constante de acoplamento de 8,3 Hz, sinal este correspondente a H-6 (H-7 na 2-estirilcromona) que acopla de igual modo com dois prótons, H-5 e H-7. Pela constante de acoplamento de H-6 de 8,3 Hz sabe-se que os sinais correspondentes aos prótons H-5 e H-7 seriam dupletos com um valor de constante de acoplamento semelhante, deste modo e sabendo qual o sinal de carbono correspondente a C-6 e recorrendo ao espectro de HMBC identificaram-se os sinais destes prótons pelas correlações a longa distância entre estes e os carbonos do anel A (figura 30, setas verdes).

Ainda na zona aromática, e mantendo a ideia de que os anéis D e E não teriam sofrido alterações, procurou-se identificar estes prótons. Assim, pelas constantes de acoplamento e valor dos integrais identificaram-se dois sinais em forma de dupletos (6,67 e 6,97 ppm) com constantes de 2,1 Hz correspondentes a prótons com acoplamento *meta*, ou seja os prótons H-2' e H-2''. Identificaram-se também dois dupletos (6,67 e 6,77 ppm) com constantes de acoplamento de aproximadamente 8,0 Hz correspondentes acoplamentos entre prótons em posições *orto* (que só acoplam com um próton por serem dupletos) ou seja, os prótons H-5' e H-5''. Por fim, restavam dois sinais em forma de duplos dupletos, que só poderiam corresponder à ressonância dos prótons H-6'e H-6''

que acoplam com os prótons H-2', H2'', H5' e H-5'' o que se comprovou pelos valores das constantes de acoplamento. Todos estes sinais foram atribuídos aos respectivos anéis D e E recorrendo aos espectros de HSQC e HMBC, figuras 31 e 32. Nesta altura foi também identificado o sinal do próton H-7'', complementando com a informação obtida pelo espectro de HSQC (figura 30, setas cor-de-laranja).

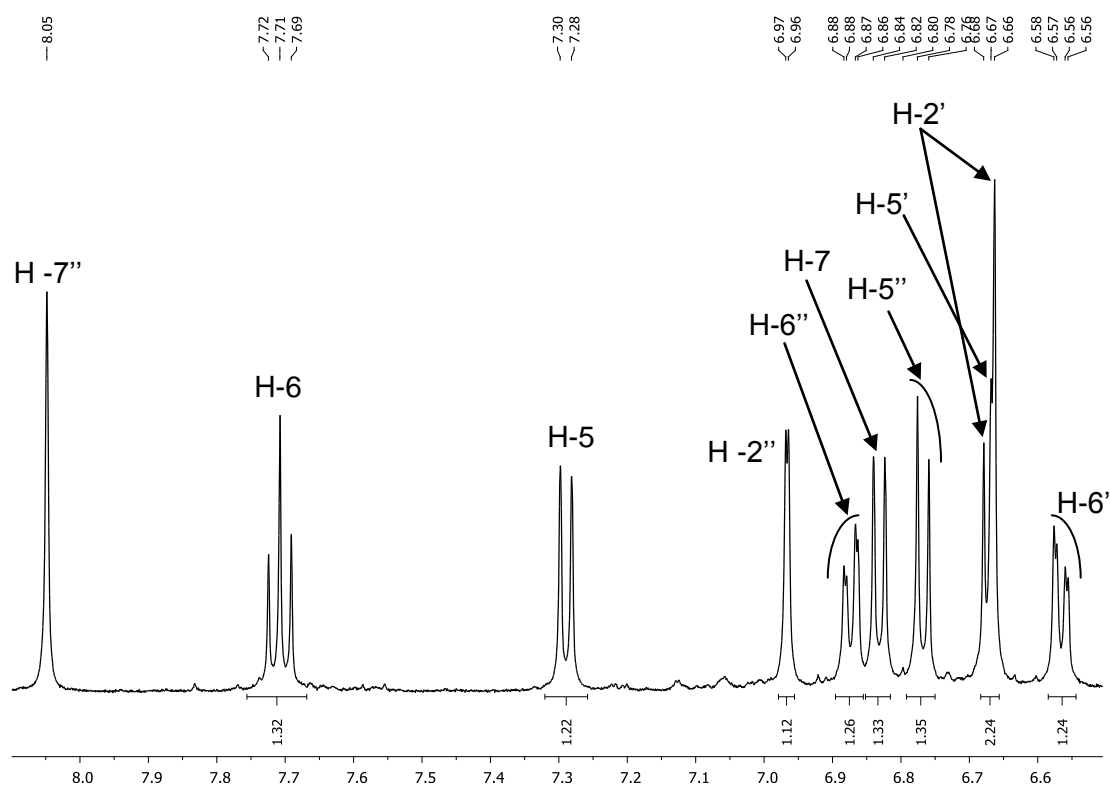


Figura 31. Espectro de RMN de ^1H da (*E*)-8-hidroxi-4-(3,4-di-hidroxibenzilideno)-3-(3,4-di-hidroxifenil)-3,4-di-hidro-1*H*-xantene-1,9(2*H*)-diona (**47d**).

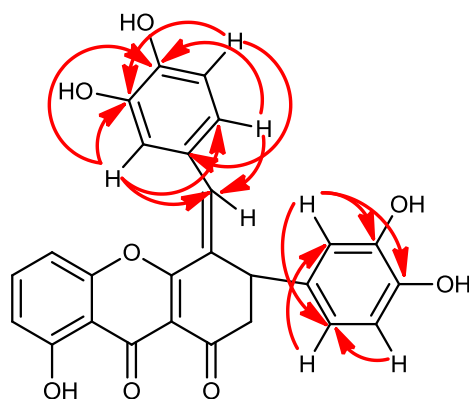


Figura 32. Correlações apresentadas no espectro de HMBC da (*E*)-8-hidroxi-4-(3,4-di-hidroxibenzilideno)-3-(3,4-di-hidroxifenil)-3,4-di-hidro-1*H*-xantene-1,9(2*H*)-diona (**47d**).

Quanto aos prótons do novo anel formado foi um pouco mais complexa a atribuição dos seus sinais, mas pelas correspondências observadas no espectro HSQC, figura 33, denota-se que o duplete a 4,60 ppm corresponde à ressonância de H-3 e os dois duplos dupletos correspondem aos hidrogênios H-2, uma vez que os dois últimos estão ligados ao mesmo carbono. Pelas constantes de acoplamento conseguiu assinalar-se a configuração *cis* e *trans* destes três prótons. Uma vez que o H-3 e um dos H-2 (δ 2,70 ppm) têm um valor de constante de acoplamento próximo, entre 2 e 3 Hz, significa que estes dois prótons estão acoplados um com o outro e pelo valor desta constante de acoplamento pode-se concluir que os prótons estão em configuração *trans*. Por outro lado o segundo H-2 tem, para além da constante de acoplamento de 15,0 Hz que demonstra o acoplamento com o outro próton 2, uma outra constante de acoplamento de 5,7 Hz que indica a sua configuração *cis* relativamente ao H-3.

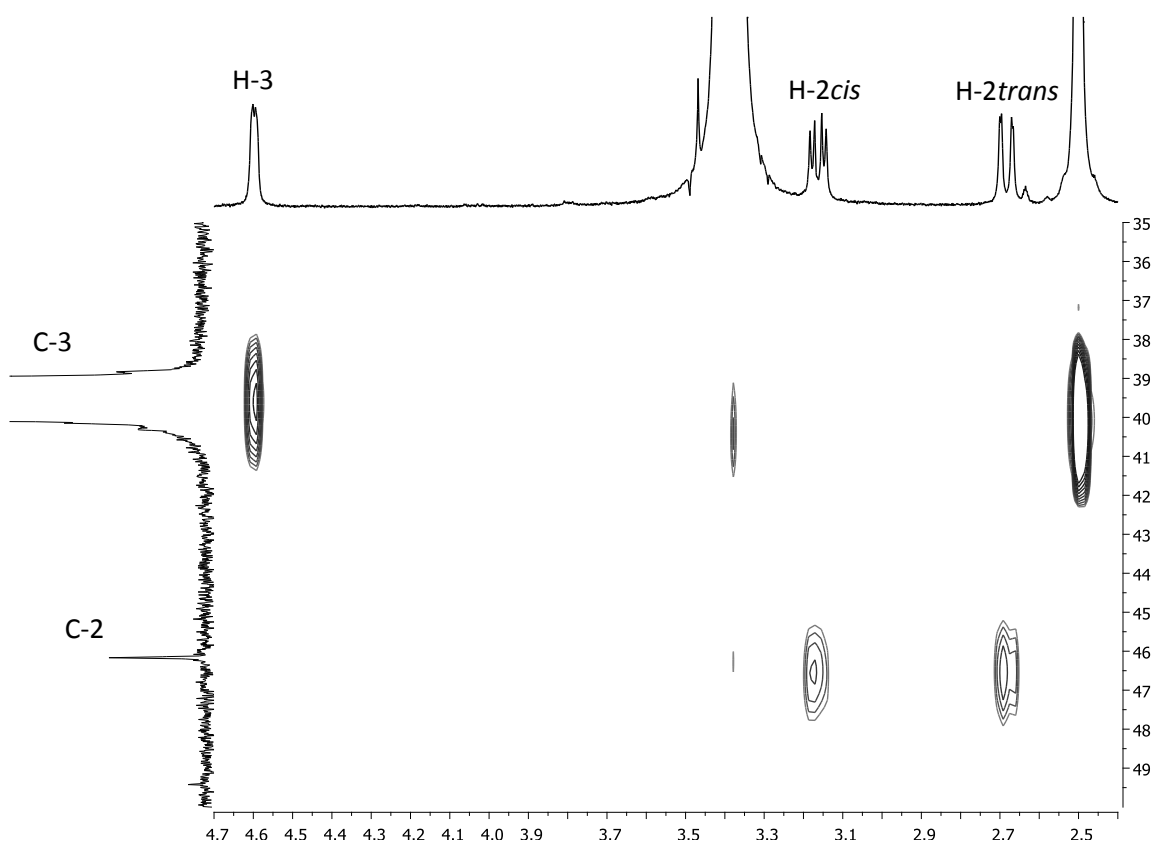


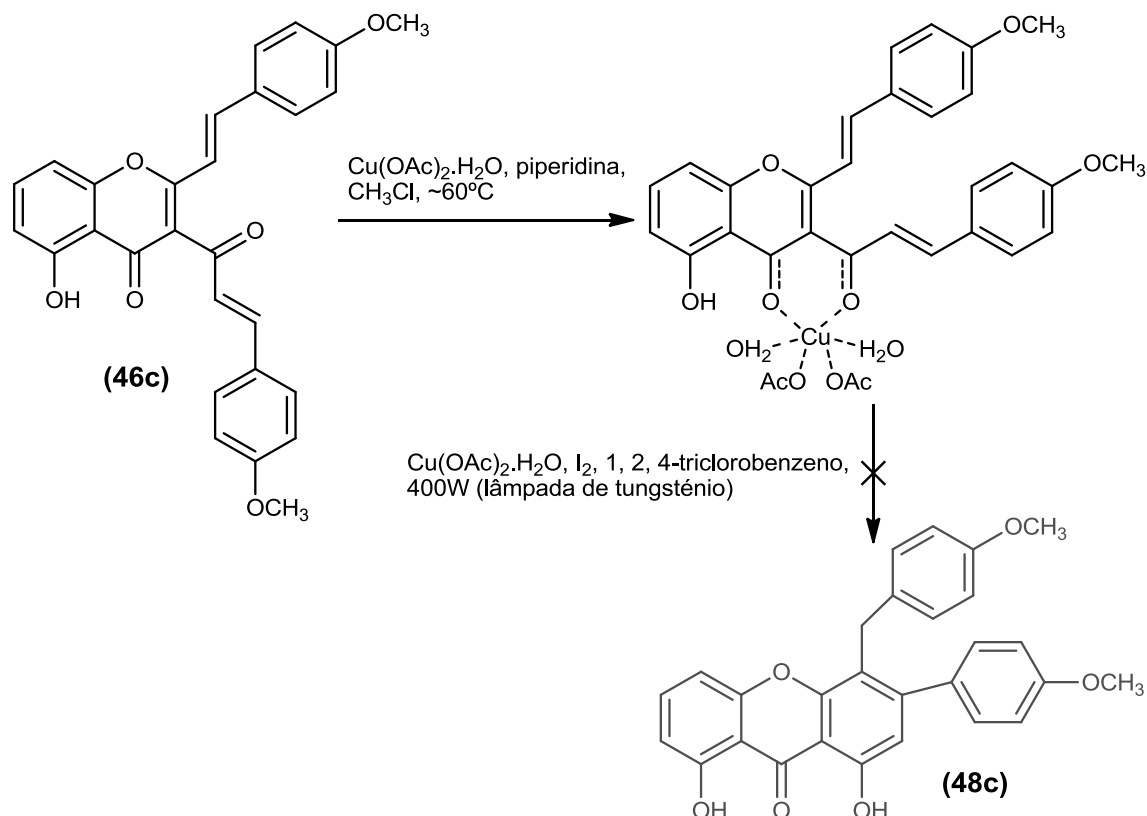
Figura 33. Espectro de HSQC da (*E*)-8-hidroxi-4-(3,4-di-hidroxibenzilideno)-3-(3,4-di-hidroxifenil)-3,4-di-hidro-1*H*-xantene-1,9(2*H*)-diona (**47d**).

A configuração, *E* ou *Z*, da ligação dupla entre C-4 e C-7'' só conseguiu ser atribuída através dos espectros de COSY e NOESY e por exclusão de partes. Como o H-5'' no espectro de NOESY não tem correlação com os hidrogênios 5 ou 6, pode concluir-se que a configuração da dupla em questão é *E*.

Posteriormente, e aquando da caracterização dos derivados **47a-c** esta tarefa foi de relativa facilidade uma vez que o derivado **47d** foi primeiramente caracterizado. As principais diferenças em termos de espectro têm que ver, mais uma vez, com os sinais dos prótons dos grupos substituintes (quando os há) e dos prótons dos anéis D e E que são afetados pela presença dos substituintes. No caso do derivado **47a**, como este não possui substituintes nos anéis D e E a ressonância dos prótons destes anéis origina multipletos.

2.4. Síntese de (*E*)-3-aryl-4-benzilideno-1,8-di-hidroxi-1*H*-xantene-9-ona

As xantonas, como mencionado anteriormente, são um importante grupo de compostos, uma vez que exibem uma vasta e importante diversidade de atividades biológicas. Tendo em conta reações feitas pelo nosso grupo de investigação,^[33] cujo mecanismo pressupõe a isomerização de uma ligação dupla, com recurso a iodo, a fim de facilitar uma reação de ciclização e aromatização, pensou-se recorrer a uma metodologia semelhante para a síntese das xantonas pretendidas, uma vez que o tipo de reação se assemelha ao desejado. Este método sintético, que implica eletrociclização e oxidação, recorre ao uso de uma lâmpada de tungsténio de 400 watts que atinge temperaturas muito elevadas (por esse motivo usou-se um circuito de água para não haver sobreaquecimento desta). O solvente utilizado foi 1,2,4-triclorobenzeno, pois tem um elevado ponto de ebulição aguentando assim temperaturas muito elevadas. O meio reacional foi submetido à irradiação com lâmpada de tungsténio por 8 dias, ao fim dos quais a análise por TLC preparativo permitiu concluir que o reagente de partida permaneceu inalterado, ou seja, a reação não resultou.

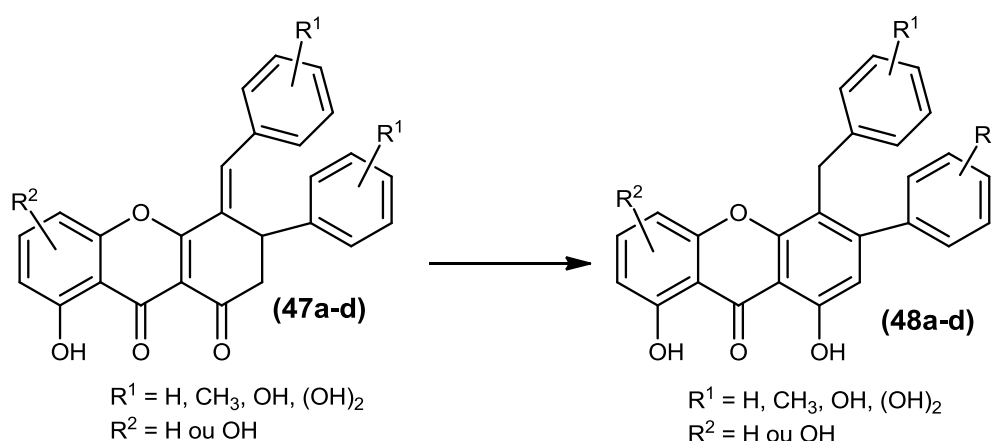


Esquema 17. Síntese da xantona **48c** partindo da (*E,E*)-3-cinamoíl-5-hidroxi-2-estirilcromona **46c**.

Uma vez que a estrutura **46c** possui dois grupos carbonilo em C-1 e C-3, pensou-se adicionar um metal que complexasse com estes dois grupos e assim facilitasse a isomerização da dupla ligação do grupo cinamoílo a fim de promover a reação de adição pretendida. Deste modo, e depois de alguma pesquisa bibliográfica, encontrou-se um método que ia de encontro às nossas necessidades. Os reagentes usados foram os mesmos que os usados no método descrita anteriormente, iodo e 1,2,4-triclorobenzeno como solvente, e adicionou-se ao meio reacional um agente complexante, o acetato de cobre hidratado. A reação foi efetuada sob irradiação da lâmpada de tungstênio de 400 watts por 8 dias e, por TLC preparativo mais uma vez se comprovou que o reagente de partida não tinha sofrido qualquer reação. Assim, fez-se um ajuste à metodologia utilizada, procedendo-se primeiramente à síntese do complexo e só depois do complexo formado se irradiaria com a lâmpada, uma vez que não se sabe se a reação anterior não resultou por incapacidade de formação do complexo ou se houve formação do complexo e a luz irradiada não permitiu a reação pretendida. Deste modo, procedeu-se à síntese do complexo, mas desta vez partindo da cromona **46c**, fazendo-a reagir com acetato de cobre hidratado, piperidina e usando clorofórmio como solvente em refluxo, durante 3 horas. Após purificação, o sólido obtido foi analisado por espectrometria de

infravermelho, a qual permitiu concluir que o complexo foi sintetizado. Partindo deste complexo fez-se reagir com iodo em 1,2,4-triclorobenzeno sob irradiação de uma lâmpada de tungstênio de 400 watts. Ao longo de quatro dias a reação foi controlada por TLC preparativo e não se verificou formação de nenhum composto novo, assim terminou-se a reação.

Procedeu-se ao planeamento de um novo método de síntese de xantonas partindo dos derivados de xantedionas sintetizados **47a-d**. A nível molecular quaisquer que fossem os métodos a utilizar teriam de tornar o anel B num anel aromático, o que implica a sua desidrogenação, ou seja, a remoção dos dois hidrogénios deste anel posicionados em C-2 e C-3 e consequente redução do grupo carbonilo em C-1 em hidroxilo. Esta transformação teria ainda de permitir a hidrogenação em C-7, possibilitando assim a formação de um anel aromático.



Esquema 18. Síntese das xantonas **48a-d** partindo das xantedionas **47a-d**.

Fizeram-se tentativas de reações realizadas à temperatura ambiente, em condições clássicas de aquecimento e recorrendo a irradiação com micro-ondas usando como reagente de partida a xantediona **47b**. Nas reações efetuadas à temperatura ambiente recorreu-se ao uso de ácidos (H_2SO_4 , *p*-TSA), bases (DBU, LiHMDS) e mesmo de condições oxidantes (DMSO/I_2) com diferentes tempos de reação, mas não se conseguiu a aromatização desejada, obtendo-se ao invés produtos de decomposição e maioritariamente reagente de partida. Usando condições clássicas de aquecimento tentou-se a oxidação da xantediona utilizando H_2SO_4 em DMSO a 80°C , mas sem formação de novos compostos; e com recurso à base de lítio LiHMDS, a 80°C , obteve-se a xantona pretendida mas com rendimentos muito baixos (inferiores a 5%) (tabela 3, entrada 6).

Assim alterou-se novamente a metodologia e optou-se pela irradiação com micro-ondas e usar como catalisador um oxidante. A 2,3-dicloro-5,6-dicianobenzoquinona

(DDQ), um potente oxidante é, entre outras, comumente usado em reações de ciclização e desidrogenações de compostos hidro-aromáticos. Com 2 equivalentes deste catalisador e a 170°C obteve-se a xantona **59**, conseguindo-se assim a aromatização do reagente de partida, mas com oxidação do carbono C-7'' em grupo carbonilo (entrada 1, tabela 3). Assim, diminuíram-se os equivalentes molares de oxidante para 1,5 e obteve-se a xantona **60** com um rendimento de 52%, contudo não era o composto pretendido (entrada 2, tabela 3). Deste modo, os equivalentes molares de DDQ utilizados foram, mais uma vez, diminuídos bem como a temperatura e verificou-se a formação novamente da xantona **59** e da xantona **61**, sendo esta última uma xantona com um grupo hidroxilo em C-7'' (entrada 3, tabela 3). O *p*-cloranil foi também uma opção considerada, pois este oxidante é usado com frequência em reações de ciclização, mas desta reação não se obteve a xantona pretendida, verificando-se no entanto a formação das xantona **59** e **62**, sendo esta última um derivado hidroxilado em C-7'' no qual se formou um anel de cinco lados (entrada 4, tabela 3).

Tabela 3. Tabela representativa das diversas condições testadas para a síntese da xantona **48b**.

| Entrada | Catalisador | Condições Reacionais | Composto Obtido (%) |
|---------|----------------|--|------------------------------------|
| 1 | 2 equiv. DDQ | MW (170°C, 30 min.) TCB | 59 (28%) |
| 2 | 1,5 equiv. DDQ | MW (170°C, 30 min.) TCB seco, peneiras moleculares | 60 (52%) |
| 3 | 1,3 equiv. DDQ | MW (100°C, 30 min.) TCB seco, peneiras moleculares | 59 (15%) 61 (30%) |
| 4 | 2 equiv. ChA | MW (170°C, 30 min.) TCB seco, peneiras moleculares | 59 (10%) 62 (34%) |
| 5 | 1,2 equiv. DBU | MW (100°C, 10 min.) DMSO | 48b (18%) |
| 6 | LiHMDS | Aquecimento Clássico (80°C) | 48b (<5%) |

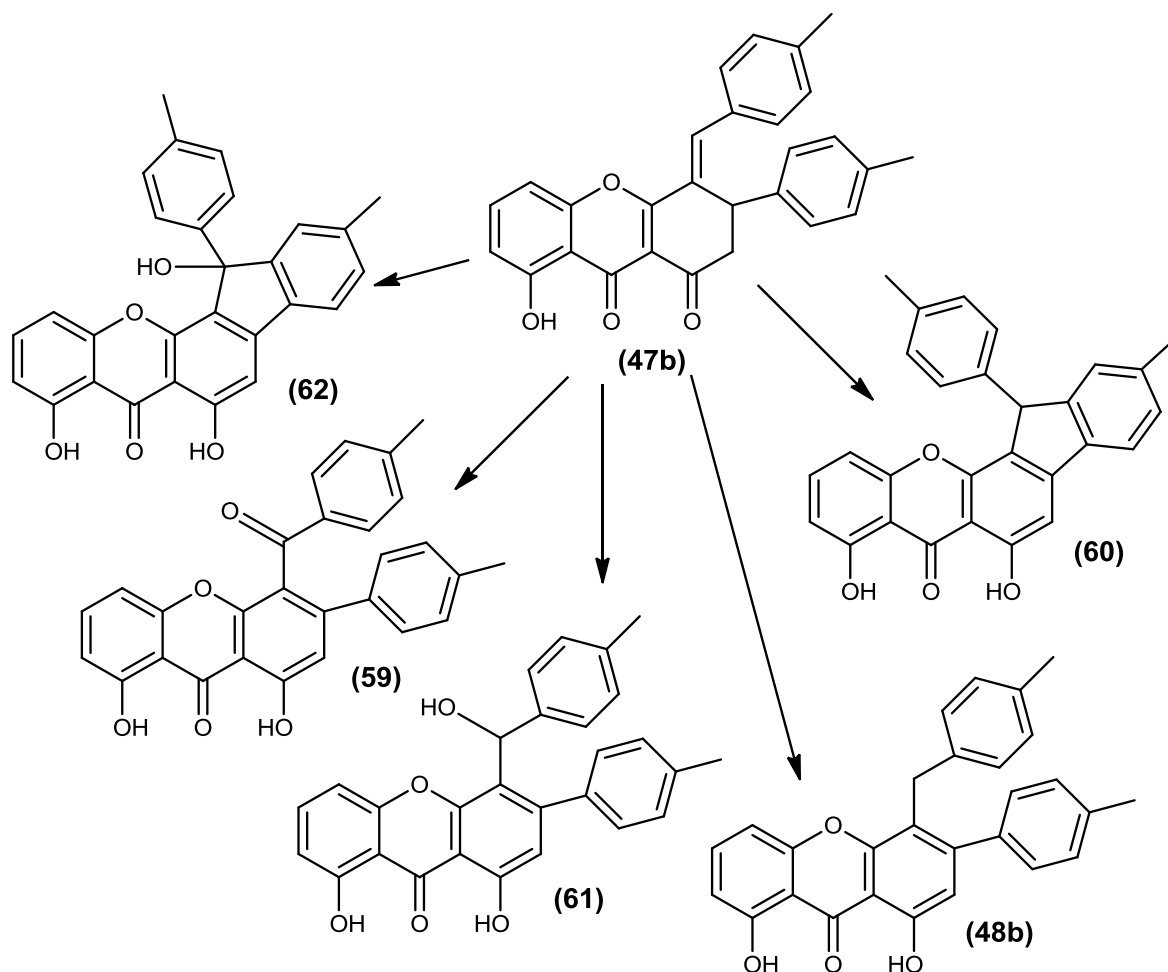


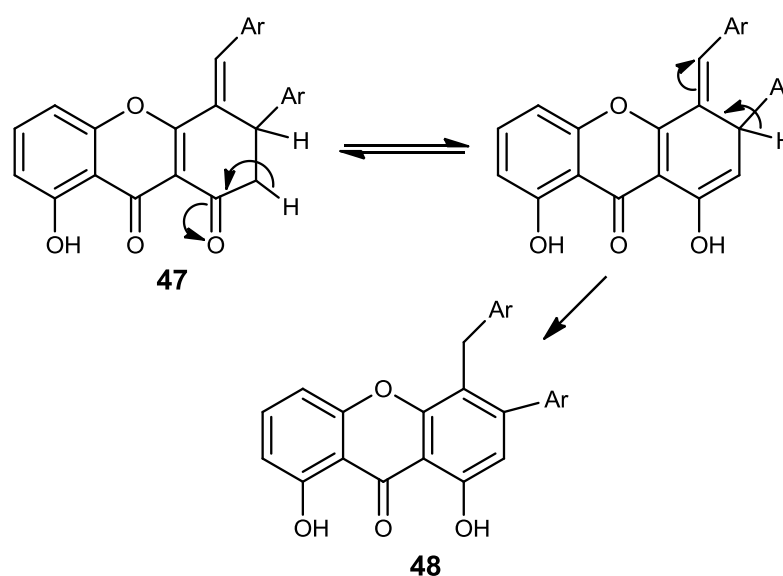
Figura 33. Estruturas dos derivados xantona obtidos por oxidação de **47b**.

Decidiu-se tentar DBU como catalisador, uma base orgânica não nucleofílica. A reação foi efetuada em DMSO e o meio reacional irradiado com radiação de micro-ondas, tendo-se obtido a xantona pretendida **48b**, mas em rendimentos muito baixos. A tabela 4 mostra as diversas tentativas, condições e respectivos rendimentos e pode concluir-se que as melhores condições reacionais se verificaram com temperatura a 100°C e durante 10 minutos e 1,2 equivalentes molares de DBU. Uma vez que estas condições foram, até então, as mais favoráveis, repetiu-se a reação para a xanthenediona **47b** e obteve-se a respetiva xantona **48b** em quantidades muito baixas.

Tabela 4. Tabela representativa das diversas condições testadas para a síntese da xantona **48b** aquando da utilização de DBU e aquecimento por micro-ondas da xantenediona **47b**.

| Temperatura | Tempo | Equivalentes de DBU | Rendimento |
|-------------|---------|---------------------|------------|
| 120°C | 10 min. | 1.2 equiv. | 7% |
| 100°C | 10 min. | 1.2 equiv. | 18% |
| 100°C | 20 min. | 1.2 equiv. | 5% |
| 100°C | 60 min. | 2.4 equiv. | 7% |
| 60°C | 30 min. | 2.4 equiv. | 0% |
| 80°C | 30 min. | 4.8 equiv. | 17% |
| 100°C | 30 min. | 7 equiv. | - |

O mecanismo proposto para a aromatização das xantenedionas em xantonas tem início com a eliminação de um protão altamente ácido havendo um equilíbrio ceto-enólico (esquema 19). A molécula na forma enólica sofre uma transposição 1,3 de um protão com consequente aromatização do anel.



Esquema 19. Proposta mecanística para a síntese da xantona **48**.

2.5. Avaliação da atividade antioxidante

Algumas xantenedionas sintetizadas, **47a**, **c-d**, foram sujeitas a três testes *in vitro* com a finalidade de determinar a sua atividade antioxidante por diferentes mecanismos de ação.

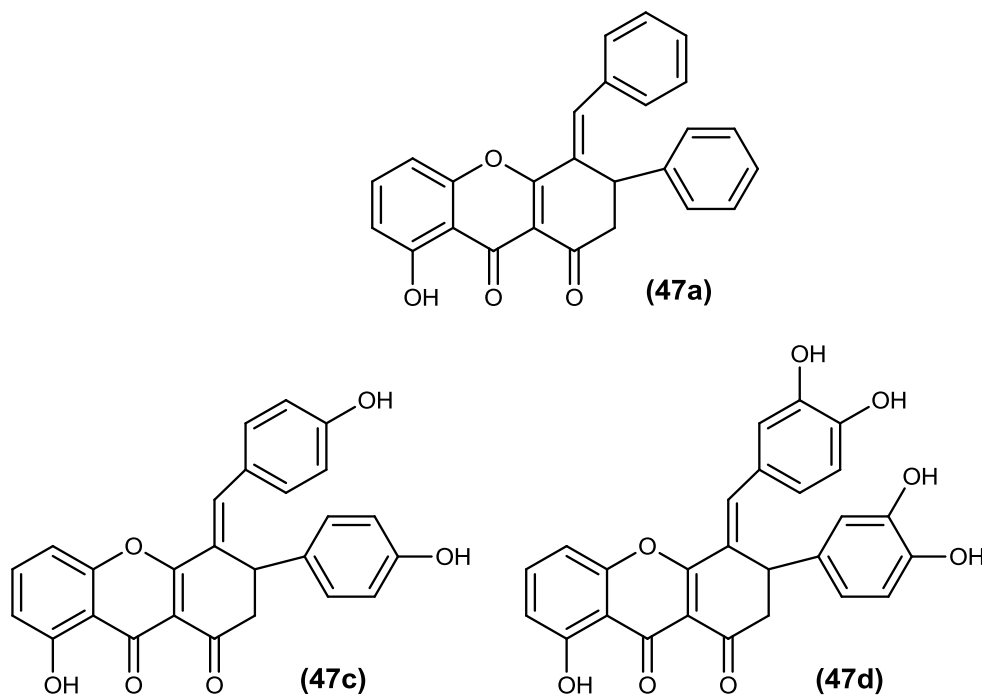


Figura 34. Estruturas dos derivados xantenediona **47a**, **c-d** dos quais se avaliou a atividade antioxidante.

i. Atividade quelante do ferro

O método utilizado na medição da atividade quelante de Fe^{2+} tem por base o facto de a ferrozina formar facilmente um complexo de cor vermelha com o Fe^{2+} . Quando adicionado outro composto com capacidade quelante ao Fe^{2+} a formação deste complexo é comprometida para dar lugar à formação do complexo antioxidante- Fe^{2+} e a intensidade da solução vermelha diminui, o que se traduz na diminuição da absorvância da solução a 562 nm. Seguiu-se a metodologia usada pela maioria dos autores que utilizam este método para a medição da atividade antioxidante,^[33] nomeadamente concentrações, reagentes, solventes bem como a utilização de um tampão acetato a 0,1 M com pH 4,9.^[84] O EDTA e a quercetina foram os compostos escolhidos como controlos positivos neste método.

Mediram-se as absorvâncias a 562 nm das soluções contendo as xantenedionas **47a**, **c-d**, EDTA e quercetina contra o branco, que neste caso era apenas água destilada. Os valores de absorvância obtidos foram inferiores a 0,1 para concentrações de 1000

$\mu\text{g/mL}$ (da solução inicial), os valores de absorvância medidos foram abaixo da gama de confiança (entre 0,1 e 1). Deste modo, fizeram-se vários ensaios na procura de obtenção de valores de absorvância aceitáveis e aumentou-se a concentração de ferrozina em 1,5 vezes e a concentração dos controlos e das xantenedionas. Com este aumento nas concentrações os valores de absorvância para os controlos já formam na ordem dos 0,3 a 1,2 mas verificou-se que a estas concentrações as xantenedionas precipitavam o que indica a sua baixa solubilidade.

ii. Poder redutor de ferro(III)

Seguiu-se o método de Oyaizu^[85] cuja metodologia é amplamente usada em estudos de atividade antioxidante por redução.^[86] A uma alíquota das amostras com diferentes concentrações iniciais (20, 80, 160 e 200 $\mu\text{g/mL}$) adicionou-se tampão de fosfato (pH 6,6) e ferricianeto de potássio e levou-se a incubar num banho a 50°C durante 20 minutos. A solução foi deixada arrefecer à temperatura ambiente e depois adicionado ácido tricloroacético, água destilada e cloreto de ferro(III) e levada novamente a incubar a 50°C, mas agora apenas por 10 minutos.

As xantenedionas **47a**, **c** e **d** foram testadas usando este método e usou-se como branco apenas água destilada e como comparação positiva o BHT e a quercetina por serem potentes agentes antioxidantes. Foram feitas três réplicas de cada medição e calculada a média para elaboração do gráfico 1, que representa a absorvância medida em função da concentração dos compostos testados. Salienta-se que o aumento da absorvância traduz o aumento da quantidade de Fe^{3+} reduzido a Fe^{2+} .

As xantenedionas **47a** e **47c** demonstraram não possuir atividade redutora significativa, uma vez que os valores de absorvância medidos nas várias concentrações pouco oscilaram e mantiveram-se na ordem dos 0,024 – 0,129 o que demonstra que estes compostos têm baixa capacidade redutora de ferro(III), pelo menos quando comparada com os restantes compostos testados. Mesmo possuindo poder redutor muito baixo, destas duas xantenedionas o derivado **47c** apresenta capacidade de reduzir ferro(III) ligeiramente superior ao derivado **47a**, isto pode dever-se à presença dos substituintes hidroxilo, que já provaram aumentar a capacidade antioxidante dos compostos que os possuem.

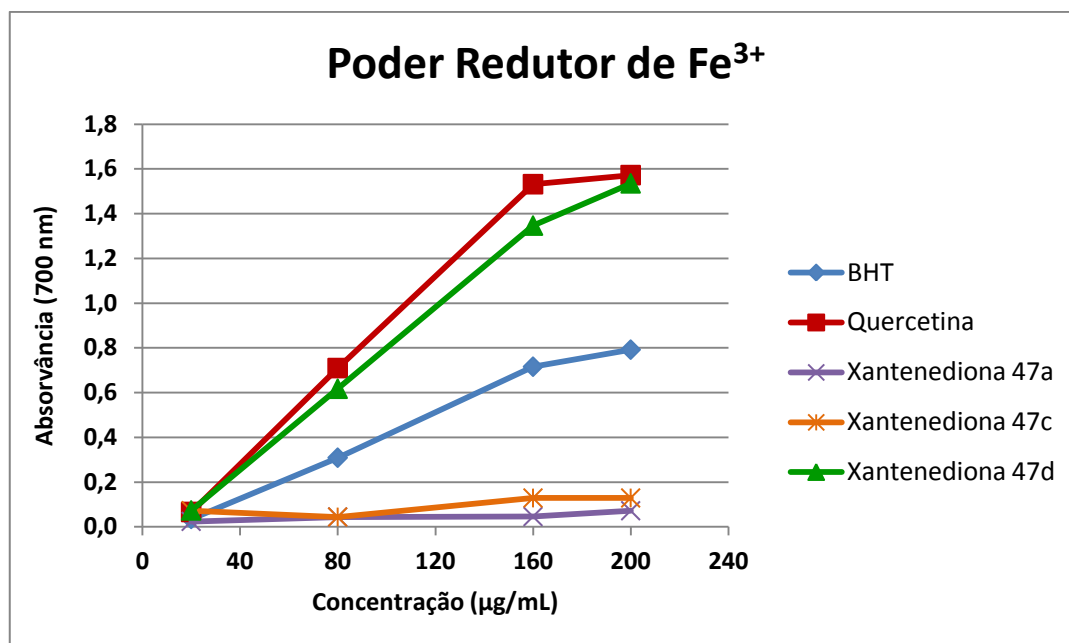


Figura 35. Poder redutor das xantenedionas 47a, c-d.

Da análise da figura 35, como era esperado, ambos os compostos testados como controlo positivo, o BHT e a quercetina, apresentam elevado poder redutor sendo que este aumenta com o aumento da concentração dos compostos. Dos dois a quercetina apresenta capacidade redutora significativamente superior, apesar do BHT ser o composto mais utilizado para controlo nesse tipo de metodologia. Verifica-se também que o aumento da atividade redutora destes compostos foi menor entre os 160 e os 200 µg/mL do que até então, o que indica que os compostos antioxidantes têm um poder máximo de atuação, ou seja atingido uma determinada concentração a sua capacidade antioxidante não aumenta por maior que seja a sua concentração.

A xantenediona **47d** foi, dos três derivados testados, a que demonstrou maior capacidade de redução do ferro(III), sendo maior que o poder redutor verificado para o BHT que é por excelência um potente redutor e muito próximo da quercetina. Do mesmo modo que se verificou para os antioxidantes de controlo também o poder redutor de ferro(III) da xantenediona **47d** aumentou com o aumento da sua concentração em solução (figura 35).

Comparando a capacidade redutora das xantenedionas, tendo em conta as suas estruturas moleculares, conclui-se que (como verificado por muitos outros autores) a presença de grupos catecol faz com que o poder antioxidante, neste caso redutor, seja muito superior à mesma molécula que não tem estes grupos e mesmo do derivado com apenas um grupo hidroxilo.

iii. Atividade captadora de radicais DPPH•

A atividade antioxidante das xantenedionas **47c-d** e da quercetina foram determinadas utilizando o método do DPPH•. A xantenediona **47a** não foi testada por este método, uma vez que se verificou que o seu poder redutor é praticamente nulo, pelo que a sua atividade sequestradora de radicais não deveria ser significativa.

Este método consiste na medição da absorvância de várias soluções ao longo do tempo, soluções estas que possuem em comum o solvente (etanol), a concentração de DPPH• na célula ($6,0 \times 10^{-5}$ M), o volume final da mesma (2,00 mL) e uma concentração variável de composto antioxidante. Aquando da adição do agente antioxidante à solução contendo o DPPH• este reduz-se a DPPH₂ e a solução passa de cor violeta para amarelo. Esta alteração de cor é seguida espectrofotometricamente a 517 nm, uma vez que este comprimento de onda é um máximo de absorvância do DPPH•, verificando-se uma diminuição da absorvância à medida que este se vai reduzindo a DPPH₂. A quercetina foi escolhida como controlo positivo.

Foram avaliados três parâmetros:

%DPPH residual, que é a percentagem de radical DPPH• presente em cada instante tx, sendo x o tempo em segundos, em relação à quantidade de DPPH• inicial, em t=0, que é de 100%.

$$\%DPPH \text{ residual} = \left(\frac{Abs_{tx}}{Abs_{t0}} \right) \times 100;$$

% de inibição, é a percentagem de DPPH• reduzido a DPPH₂ na célula, a cada instante de tempo x, em relação à quantidade de DPPH₂ inicial (0%).

$$\%inibição = \left(\frac{Abs_{t0} - Abs_{tx}}{Abs_{t0}} \right) \times 100;$$

EC50 ("effective concentration"), é a concentração de antioxidante necessária para reduzir a 50% a quantidade de radical existente na solução inicial. Este valor é calculado tendo em conta os valores de % de DPPH residual.^[87]

A concentração de DPPH• utilizada em todos os ensaios foi na ordem dos $6,0 \times 10^{-5}$ M, uma vez que esta é a concentração utilizada pela maioria dos autores que recorre a este método e, para cada um dos compostos a testar usaram-se três concentrações diferentes. As concentrações de antioxidante foram escolhidas de modo a que se

obtivessem valores de %DPPH residual que permitissem fazer o cálculo do EC50 por interpolação, estas concentrações são apresentadas segundo a fração da concentração de radical DPPH.

O radical utilizado tem de ser mantido sob condições específicas uma vez que se degrada com relativa facilidade. Assim as soluções de DPPH• preparadas foram mantidas a pelo menos 4°C e protegidas da luz e fez-se o estudo do comportamento deste radical para saber se nas condições utilizadas a sua degradação era significativa de modo a afetar os resultados. Pela análise da figura 36 pode concluir-se que a degradação deste composto ao longo do tempo vai afetar muito pouco a absorvância medida, mais precisamente 2,7%, valor este que foi desprezado nos cálculos. Realizou-se um estudo idêntico para uma solução de (*E*)-4-(3,4-di-hidroxibenzilideno)-3-(3,4-dihidro-1*H*-xantene-1,9(2*H*)-diona **47d** (gráfico 2) e concluiu-se que a 517 nm a absorvância da xantenediona é muito pouco afetada, contribuindo para um erro de 0,044%, o que é desprezável atendendo ao estudo em questão.

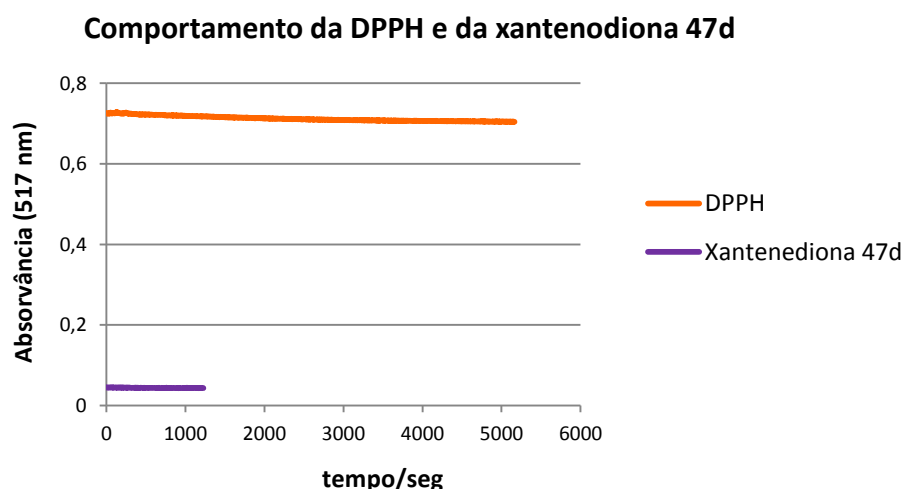


Figura 36. Comportamento da DPPH• e da (*E*)-4-(3,4-di-hidroxibenzilideno)-3-(3,4-dihidro-1*H*-xantene-1,9(2*H*)-diona **47d** ao longo do tempo.

Com os valores de percentagem de DPPH• residual e de inibição calculados, fizeram-se gráficos para cada um destes parâmetros em função do tempo, para a quercetina e a xantenedionas **47c-d**.

Procedeu-se ao estudo cinético de captação do radical DPPH• para os três compostos mencionados e obtiveram-se gráficos típicos deste tipo de estudos (figuras 37 e 38). Na figura 37 apresenta-se a percentagem de radical DPPH• residual em função do

tempo. Verifica-se inicialmente uma diminuição mais acentuada da quantidade de radical DPPH• em solução, e a partir de um determinado tempo a percentagem de radical mantém-se constante. Isto indica que para cada concentração específica de antioxidante existe uma percentagem máxima de DPPH• que é reduzido. A figura 38 apresenta três gráficos da percentagem de inibição em função do tempo, para os três compostos testados às diferentes concentrações.

De um modo geral, verificou-se que quanto maior a concentração de antioxidante, maior era a diminuição da percentagem de DPPH residual (figura 37) o que significa que mais quantidade de radical é reduzido, ou seja, maior a percentagem de inibição (figura 38). A capacidade de captação do radical DPPH• pela xantenodiona **47c** foi somente testada para dois valores de concentração, uma vez que acima dos $5,5 \times 10^{-4}$ M o composto em questão não é solúvel na solução utilizada.

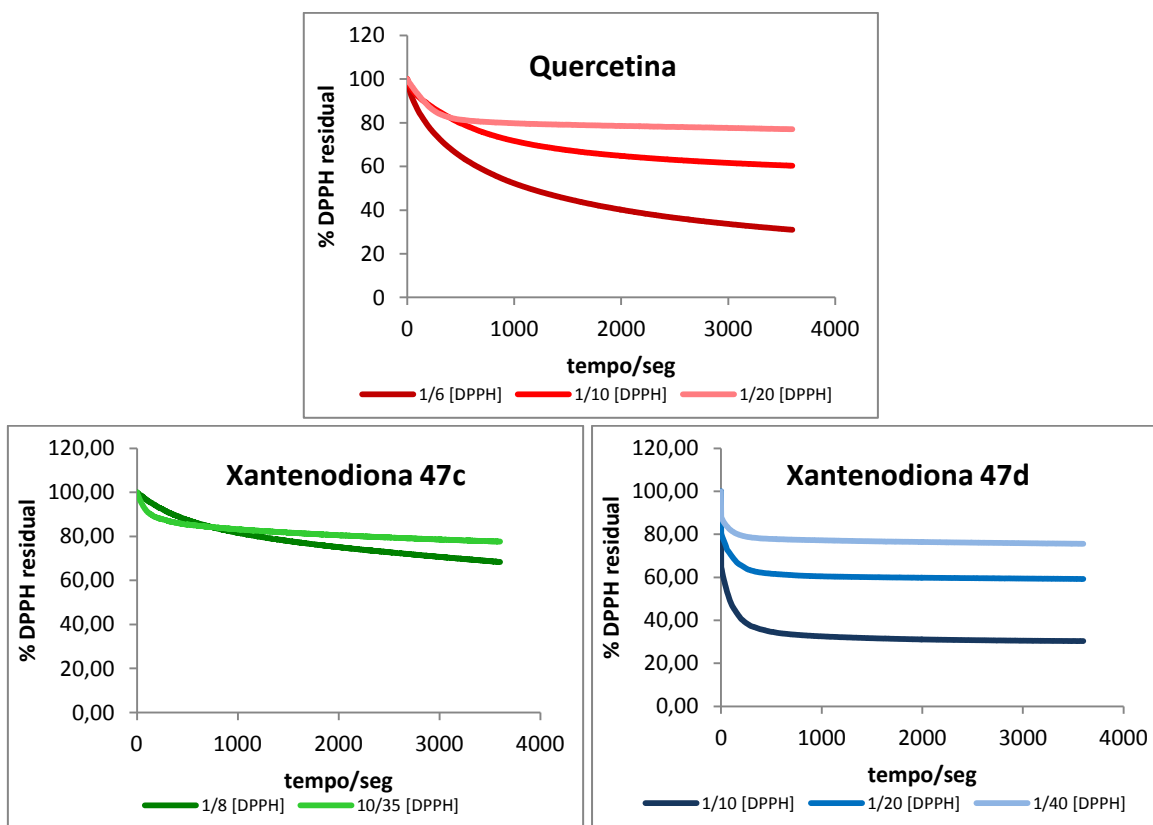


Figura 37. % de DPPH• residual em função do tempo para a quercetina e xantenodionas **47c-d**.

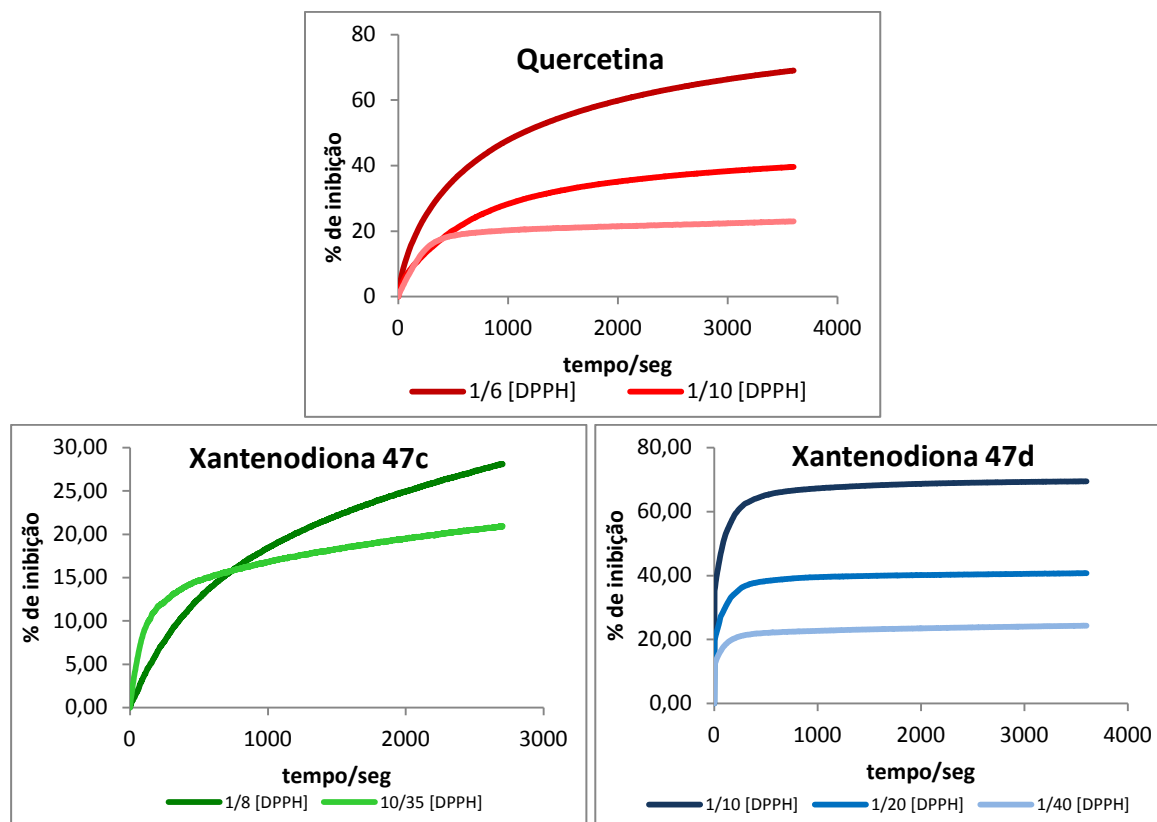


Figura 38. Gráficos representativos da % de inibição em função do tempo para a quercetina e xantenedionas 47c-d.

A figura 39 apresenta a percentagem de inibição da quercetina e das duas xantenedionas testadas em função do tempo a concentrações próximas para uma mais fácil comparação dos resultados (quercetina – 1/10 [DPPH], xantenodiona **47c** – 1/8 [DPPH] e xantenodiona **47d** – 1/10 [DPPH]). Primeiramente, através deste gráfico é evidente que a xantenodiona **47d** é dos três compostos testados o que possui maior percentagem de inibição e por isso maior capacidade de captação do radical DPPH, sendo a xantenodiona **47c** o composto que apresenta valores mais baixos de percentagem de inibição.

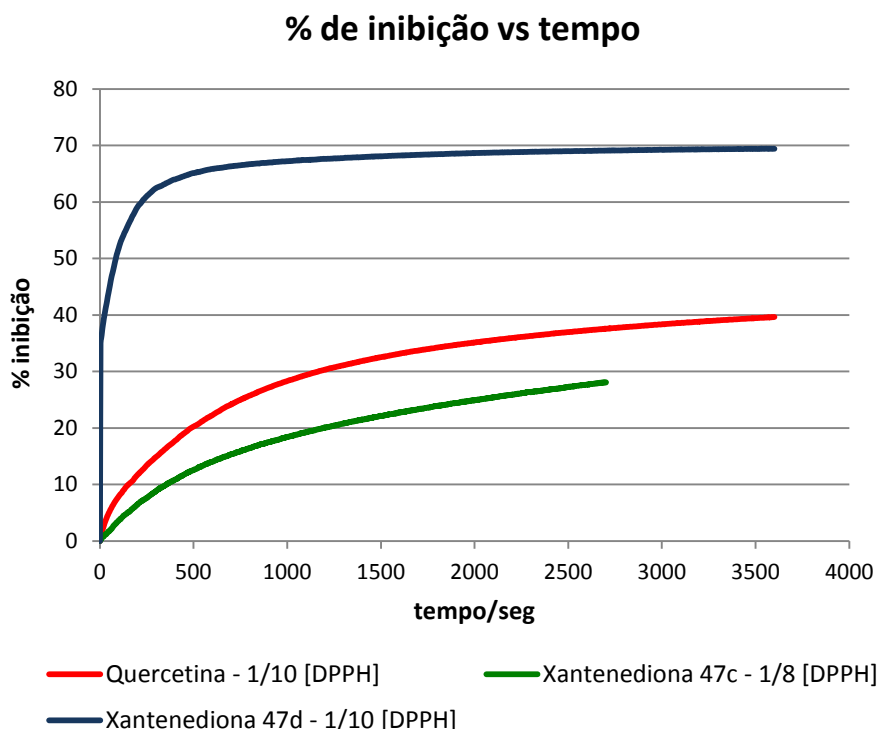


Figura 30. % de inibição da quercetina e das duas xantenedionas testadas em função do tempo (quercetina – 1/10 [DPPH], xantenediona **47c** – 1/8 [DPPH] e xantenediona **47d** – 1/10 [DPPH]).

A xantenediona **47d** apresenta uma percentagem de inibição máxima de aproximadamente 70% o que indica que 70% de todo o radical DPPH presente na solução foi reduzido a DPPH₂, enquanto que para a xantenediona **47c** a percentagem de inibição é inferior a 30%. Para além disso, a ação da xantenediona **47d** é muito mais rápida que a dos outros dois compostos testados, uma vez que há um aumento muito mais acentuado da percentagem de inibição nos primeiros minutos o que não se verifica para a quercetina nem para a xantenediona **47c**, em que há um aumento bastante mais lento da percentagem de inibição. A quercetina em comparação com a xantenediona **47c** possui menor poder captador do radical DPPH^{*}, uma vez que a sua percentagem de inibição é bastante inferior à percentagem de inibição desta xantenediona **47c**, sendo 40% ao final de uma hora em solução com o radical.

Cálculo do valor de EC50

O EC50 da quercetina e das duas xantenedionas **47c-d** testadas foi calculado utilizando os valores de %DPPH[•] residual, tabela 5. Foi feita uma reta para cada composto em questão e através da equação da reta calculou-se o valor da concentração de antioxidante necessária para reduzir a quantidade de radical DPPH[•] para metade da quantidade existente aos zero segundos.

O valor de EC50 da xantenediona **47c** foi calculado por interpolação, uma vez que não se conseguiu fazer o estudo da capacidade captadora de DPPH[•] a concentrações suficientemente altas. Deste modo, e por extrapolação, calculou-se que o valor de EC50 deste composto é superior a $5,52 \times 10^{-4}$ M. O valor de EC50 da xantenediona **47c** é duas ordens de grandeza superior aos valores obtidos para a quercetina e para a xantenediona **47d**, ou seja, é um valor muito elevado. O que significa que é necessária uma concentração muito mais elevada de xantenediona **47c** para reduzir metade da quantidade de radical DPPH[•] a DPPH₂ existente inicialmente em solução (para uma concentração de DPPH[•] de $6,0 \times 10^{-6}$ M) em relação à concentração necessária para o mesmo efeito em relação à quercetina e à xantenediona **47d**.

Tabela 5. Valores de EC50 calculados para a quercetina e xantenedionas **47c-d**.

| Composto | EC50 |
|-------------------------|---------------------------|
| Quercetina | $6,0 \times 10^{-6}$ M |
| Xantenediona 47c | $> 5,52 \times 10^{-4}$ M |
| Xantenediona 47d | $4,10 \times 10^{-6}$ M |

A xantenediona **47d** possui um valor de EC50 inferior ao EC50 da quercetina, o que indica que para reduzir a metade a concentração de DPPH[•] inicial numa solução (para uma concentração de DPPH de $6,0 \times 10^{-6}$ M) é necessário uma concentração inferior de (*E*)-8-hidroxi-4-(3,4-di-hidroxibenzilideno)-3-(3,4-di-hidroxifenil)-3,4-di-hidro-1*H*-xantene-1,9(2*H*)-diona **47d** em relação à necessária para a quercetina provocar o mesmo efeito, o que se traduz numa maior atividade antioxidante por parte do composto **47d**.

Estes resultados estão relacionados com a estrutura molecular dos compostos testados. As duas xantenedionas **47c** e **47d** diferem nos substituintes dos anéis D e E, sendo que a primeira possui um grupo hidroxilo na posição *para* enquanto a segunda possui dois grupos hidroxilo nas posições *meta* e *para* (orto um em relação ao outro).

Esta diferença estrutural está intimamente relacionada com a capacidade captadora de radicais DPPH• dos compostos em questão, visto ser a única diferença entre as duas xantenedionas e o seu valor de EC50 ser tão diferente.

Comparando estruturalmente a quercetina e a xantenediona **47d** a maior diferença entre estas é o seu núcleo estrutural, uma vez que a quercetina é uma flavona e o derivado **47d** é uma xantenediona. Mas mais importante é o facto da xantenediona **47d** apresentar duas unidades catecol, enquanto a quercetina possui apenas um grupo fenólico também ele com substituintes *orto*-hidroxilo. O núcleo estrutural destes compostos não será significativo para a capacidade captadora de radicais DPPH• dos compostos testados, uma vez que a xantenediona **47c** possui menos poder antioxidante que a quercetina segundo este mecanismo de ação. Deste modo pode concluir-se que a presença de duas unidades catecol em detrimento de apenas um é muito significativo para a capacidade captadora de radicais livres aumentando em muito o EC50 desses compostos.

III. Parte experimental

3.1. Reagentes, solventes, sílicas e aparelhos utilizados

Os reagentes comerciais usados não foram sujeitos a purificações prévias.

Os solventes usados nas transformações e purificações eram analiticamente puros ou foram, sempre que necessário, purificados por destilação:

- ✎ A piridina utilizada em todas as transformações foi seca por aquecimento em refluxo sobre hidróxido de sódio e destilada por destilação fracionada;
- ✎ O diclorometano utilizado nas transformações com tribrometo de boro foi seco por aquecimento em refluxo sobre cloreto de cálcio e destilado por destilação fracionada.

A evolução das reações foi seguida por cromatografia de camada fina (TLC), usando folhas plastificadas revestidas por sílica gel 60F₂₅₄ da Merk e observadas à luz ultravioleta com comprimentos de onda de 255 e/ou 366 nm.

Nas purificações feitas em cromatografia de camada fina (TLC) preparativa foram usadas placas de vidro (20 × 20 cm), previamente revestidas com uma camada de sílica gel 60GF₂₅₄ da Merk com espessura aproximada de 0,5mm e ativadas na estufa a 120°C durante 12 horas.

Nas purificações efetuadas por cromatografia em coluna utilizou-se sílica gel 60 com granulometria de 0,035-0,070mm ou 0,063-0,20mm.

Os valores dos pontos de fusão foram determinados num aparelho Büchi Melting Point B-540.

As reações efetuadas sob irradiação com micro-ondas foram realizadas num aparelho micro-ondas Ethos SYNTH Microwave (Milestone Inc.).

Os espectros de ressonância magnética nuclear de ¹H e de ¹³C foram obtidos num espectrómetro Bruker Avance 300 operando a uma frequência de 300,13 MHz e de 70,47 MHz respetivamente. Usou-se o tetrametilsilano (TMS) como padrão interno. Quando necessário recorreu-se a técnicas bidimensionais, nomeadamente HMBC, HSQC, COSY e NOESY.

Aquando dos estudos de atividade antioxidante, os valores de comprimentos de onda foram medidos no espectrofotómetro UV-2501 PC.

3.2. Esterificação dos grupos hidroxilo da 2',6'-di-hidroxiacetofenoa e da 2',4',6'-tri-hidroxiacetofenona

3.2.1. Síntese de (*E,E*)-bis-3-(3,4-dimetoxifenil)acrilato de 2-acetil-1,3-fenilo

A síntese dos estéres cinâmicos **44a-c**, como referido anteriormente, já foi descrita^[88] e o derivado **44d** foi sintetizado segundo o mesmo método, que consiste na adição de 2,5 equivalentes (7,5 mmol) do respetivo ácido cinâmico **43a-d** a uma solução de 3 mmol 2',6'-di-hidroxiacetofenona em CH₂Cl₂ (100 mL), 2,5 equivalentes de DCC (7,5 mmol) e 0,25 equivalentes de 4-pirrolidinopiridina (0,75 mmol). O balão contendo esta mistura foi colocado sob atmosfera de nitrogénio e agitação à temperatura ambiente durante 2 a 10 dias, dependendo do derivado. Após este tempo filtrou-se a *N,N'*-diciclohexilureia formada e lavou-se com CH₂Cl₂ (50 mL), evaporou-se em seguida o filtrado até à secura e cristalizou-se o resíduo obtido com etanol, obtendo-se os estéres **44a-d** com rendimentos de 60%, 91%, 92% e 94% respetivamente.

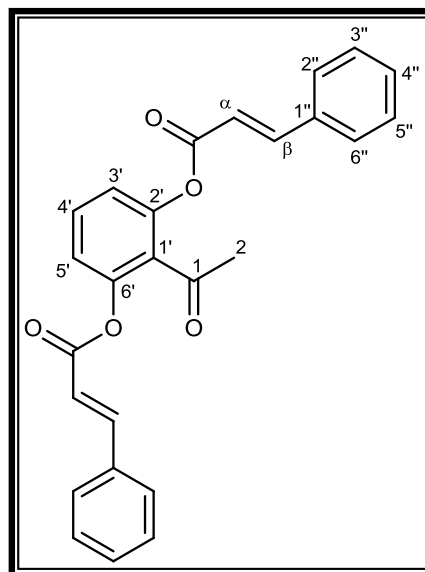
(*E,E*)-Bis-(3-fenilacrilato) de 2-acetil-1,3-fenilo (**44a**), η = 60%, p.f. = 140-142°C

RMN de ¹H (300,13MHz, CDCl₃): δ = 2,51 (s, 3H, H-2), 6,60 (d, 2H, J = 16,0 Hz, 2 \times H- α), 7,16 (d, 2H, J = 8,2 Hz, H-3', 5'), 7,41-7,46 (m, 6H, H-3'',4'',5''), 7,50 (t, 1H, J = 8,2 Hz, H-4'), 7,58 (m, 4H, H-2'',6''), 7,88 (d, 2H, J = 16,0 Hz, 2 \times H- β) ppm.

RMN de ¹³C (75,47MHz, CDCl₃): δ = 31,3 (C-2), 116,2 (2 \times C- α), 120,4 (C-3',5'), 128,3 (C-1'), 128,5 (2 \times C-2'',6''), 129,0 (2 \times C-3'',5''), 130,8 (C-4''), 131,0 (2 \times C-4''), 133,8 (2 \times C-1), 147,8 (2 \times C- β e C-2',6'), 164,7 (2 \times C=O), 198,7 (C-1) ppm.

EM-EI m/z (int. rel.): 412 (M⁺,16), 131 (100), 103 (72), 102 (20),77 (50),51 (17).

Microanálise elementar: Calculado para (C₂₆H₂₀O₅): C 75,72%, H 4,89%; encontrado: C 75,52%, H 4,79%.



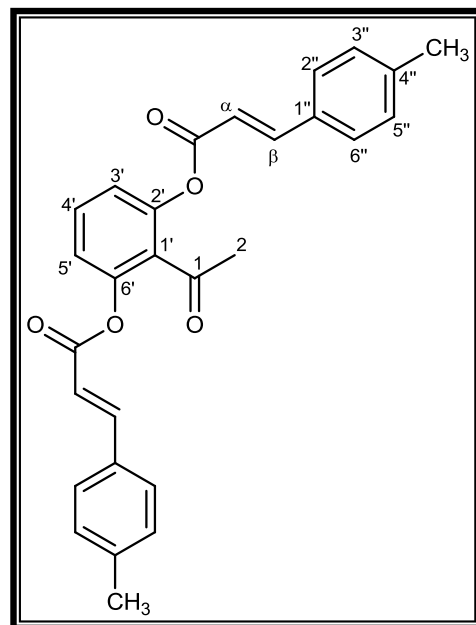
(*E,E*)-Bis[3-(4-metilfenil)acrilato] de 2-acetil-1,3-fenilo (44b), $\eta=91\%$, p.f.=154-156°C

RMN de ^1H (300,13MHz, CDCl_3): δ = 2,40 (s, 6H, 4''-CH₃), 2,51 (s, 3H, H-2), 6,55 (d, 2H, J = 16,0 Hz, 2 \times H- α), 7,15 (d, 2H, J = 8,2 Hz, H-3', 5'), 7,23 (d, 4H, J = 8,1 Hz, 2 \times H-3'', 5''), 7,48 (d, 4H, J = 8,1 Hz, 2 \times H-2'', 6''), 7,49 (t, 1H, J = 8,2 Hz, H-4'), 7,85 (d, 2H, J = 16,0 Hz, 2 \times H- β) ppm.

RMN de ^{13}C (75,47MHz, CDCl_3): δ = 21,6 (2 \times 4''-CH₃), 31,3 (C-2), 115,1 (2 \times C- α), 120,4 (C-3', 5'), 128,4 (C-1'), 128,5 (2 \times C-2'', 6''), 129,8 (2 \times C-3'', 5''), 130,7 (C-4'), 131,2 (2 \times C-1''), 141,6 (2 \times C-4''), 147,8 (2 \times C- β e C-2', 6'), 164,9 (2 \times C=O), 198,8 (C-1) ppm.

EM-EI m/z (int. rel.): 420 (M^{+} , 4), 422 (17), 145 (100), 117 (34), 116 (10), 115 (32), 91 (19), 65 (6).

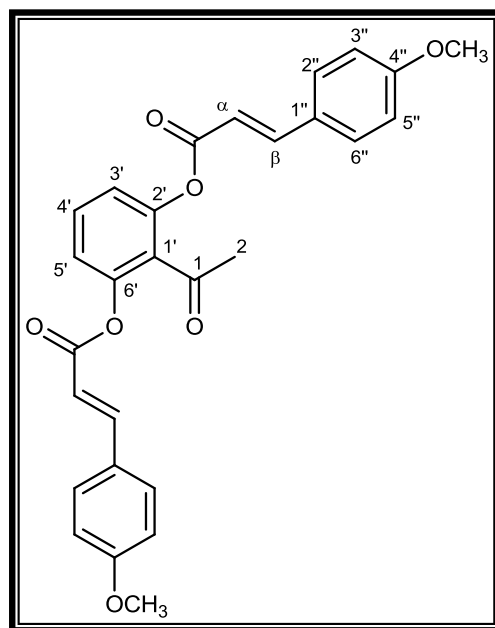
Microanálise elementar: Calculado para ($\text{C}_{28}\text{H}_{24}\text{O}_5$): C 76,35%, H 5,49%; encontrado: C 76,50%, H 5,66%.



(*E,E*)-Bis[3-(4-metoxifenil)acrilato] de 2-acetil-1,3-fenilo (44c), η = 92%, p.f. = 157-158°C

RMN de ^1H (300,13MHz, CDCl_3): δ = 2,50 (s, 3H, H-2), 3,86 [s, 6H, 2 \times (4''-CH₃)], 6,46 (d, 2H, J = 15,9 Hz, 2 \times H- α), 6,94 (d, 4H, J = 8,8 Hz, 2 \times H-3'', 5''), 7,14 (d, 2H, J = 8,2 Hz, H-3', 5'), 7,48 (t, 1H, J = 8,2 Hz, H-4'), 7,54 (d, 4H, J = 8,8 Hz, 2 \times H-2'', 6''), 7,93 (d, 2H, J = 15,9 Hz, 2 \times H- β) ppm.

RMN de ^{13}C (75,47MHz, CDCl_3): δ = 31,3 (C-2), 55,4 (2 \times OCH₃), 113,6 (2 \times C- α), 114,5 (2 \times C-3', 5'), 120,3 (2 \times OCH₃), (C-3', 5'), 126,6 (2 \times C-1''), 128,4 (C-1'), 130,3 (2 \times C-2'', 6''), 130,7 (C-4'), 147,5 (2 \times C- β), 147,9 (C-2', 6'), 162,0 (2 \times C-4''), 165,0 (2 \times C=O), 198,9 (C-1) ppm.

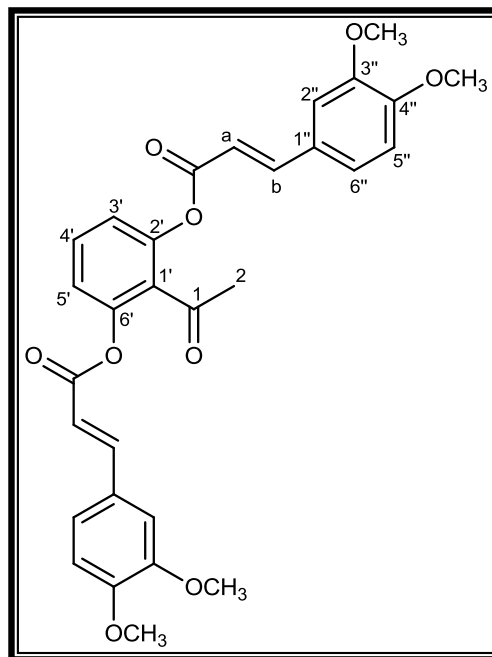


EM-EI m/z (int. rel.): 472 (M^{+} , 4), 384 (40), 302 (12), 259 (16), 203 (21), 176 (22), 161 (100), 134 (23), 133 (23), 121 (28), 98 (13), 77 (9), 55 (10).

(*E,E*)-Bis[3-(3,4-dimetoxifenil)acrilato] de 2-acetil-1,3-fenilo (44d), $\eta = 94\%$, p.f. = 177-179°C

RMN de ^1H (300,13MHz, CDCl_3): $\delta = 2,52$ (s, 3H, H-2), 3,94 [s, 12H, $2 \times (3 \text{ e } 4\text{-OCH}_3)$], 6,47 (d, 2H, $J = 15,8 \text{ Hz}$, $2 \times \text{H-}\alpha$), 6,90 (d, 2H, $J = 8,4 \text{ Hz}$, $2 \times \text{H-}5''$), 7,11 (d, 2H, $J = 1,9 \text{ Hz}$, $2 \times \text{H-}2''$), 7,15 (dd, 2H, $J = 1,6 \text{ e } 8,3 \text{ Hz}$, H-3' e 5'), 7,17 (dd, 2H, $J = 1,9 \text{ e } 8,4 \text{ Hz}$, $2 \times \text{H-}6''$), 7,49 (t, 1H, $J = 8,3 \text{ Hz}$, H-4'), 7,82 (d, 2H, $J = 15,8 \text{ Hz}$, $2 \times \text{H-}\beta$) ppm.

RMN de ^{13}C (75,47MHz, CDCl_3): $\delta = 31,3$ (C-2), 56,0 [$2 \times (3 \text{ e } 4 \text{ O-CH}_3)$], 109,7 ($2 \times \text{C-}2''$), 111,0 ($2 \times \text{C-}5''$), 113,7 ($2 \times \text{C-}\alpha$), 120,3 (C-3', 5'), 123,4 ($2 \times \text{C-}6''$), 126,8 ($2 \times \text{C-}1''$), 128,4 (C-1'), 130,7 (C-4'), 147,7 (C- β), 147,8 (C-2', 6'), 149,2 ($2 \times \text{C-}3''$), 151,7 ($2 \times \text{C-}4''$), 165,0 ($2 \times \text{C=O}$), 199,0 (C-1) ppm.

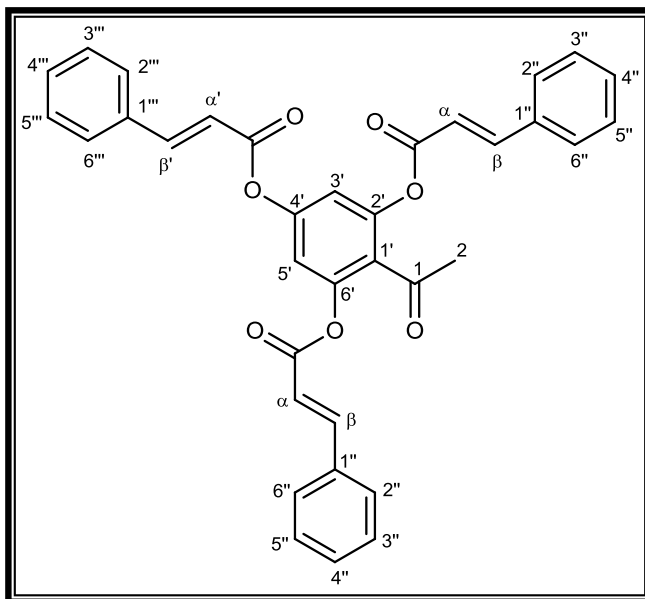


3.2.2. Síntese de (*E,E,E*)-tris-3-fenilacrilato de 2-acetil-1,3,5-fenilo

A uma solução de 3 mmol da 2',4',6'-tri-hidroacetofenona em piridina anidra (100 mL) adicionaram-se 3,5 equivalentes de cloreto de cinamoílo (10,5 mmol). A mistura reacional foi colocada sob atmosfera de nitrogénio e agitação à temperatura ambiente durante 20 horas e ao fim deste período verteu-se para um gobelé com gelo (20 g) e água destilada (200 mL) e acidificou-se com uma solução aquosa de HCl até que a solução ficasse com pH inferior a 4. Filtrou-se o sólido obtido, dissolveu-se em clorofórmio e lavou-se com água. Evaporou-se o solvente até à secura e o resíduo obtido foi cristalizado com etanol, obtendo-se o (*E,E,E*)-tris-3-fenilacrilato de 2-acetil-1,3,5-fenilo com um rendimento de 67%.

(*E,E,E*)-Tris-3-fenilacrilato de 2-acetil-1,3,5-fenilo (45a), η = 67%

RMN de ^1H (300,13MHz, CDCl_3): δ = 2,53 (s, 3H, H-2), 6,59 (d, 1H, J = 16,0 Hz, 2 \times H- α), 6,60 (d, 1H, J = 16,0 Hz, H- α'), 7,12 (s, 2H, H-3', 5'), 7,42 – 7,45 (m, 9H, 2 \times H-3''-5''), 7,58 – 7,61 (m, 6H, 2 \times H-2'',6'', H-2''',6'''), 7,88 (d, 2H, J = 16,0 Hz, 2 \times H- β), 7,89 (d, 1H, J = 16,0 Hz, H- β') ppm.

**Síntese de (*E,E*)-bis-3-[(3,4-dibenziloxifenil)acrilato] de 2-acetil-3-hidroxi-1,5-fenilo**

A uma solução de ácido 3,4-di-hidroxicinâmico (**43d**) (27,8 mmol) em dimetilformamida (DMF, 200 mL) adicionaram-se 3,3 equivalentes de brometo de benzilo (**58**) (91,7 mmol) e 4,5 equivalentes de carbonato de potássio (K_2CO_3 , 125,1 mmol) e colocou-se o meio reacional em refluxo (153°C), sob atmosfera de azoto e agitação. Ao fim de duas horas adicionaram-se mais 1,1 equivalentes de brometo de benzilo (30,6 mmol) e deixou-se mais uma hora em refluxo. Filtraram-se os sais inorgânicos formados (sólido branco) e lavou-se com DMF (100 mL), verteu-se o filtrado para um gobelé com água (300 mL) e gelo (50 g) e acidificou-se o meio com uma solução de HCl até atingir pH inferior a 4. Formou-se um sólido que foi filtrado, dissolvido com clorofórmio, lavado com água destilada e passado por sulfato de sódio anidro. Evaporou-se o clorofórmio e o resíduo obtido foi purificado por cromatografia em coluna com diclorometano:hexano (4:1) como eluente, obtendo-se o (*E*)-3-(3,4-dibenziloxifenil)acrilato de benzilo (**59**) puro, na forma de um sólido branco, com um rendimento de 95%.

Para a desproteção do (*E*)-3-(3,4-dibenziloxifenil)acrilato de benzilo protegido (**59**) (12,0 g) adicionou-se uma solução aquosa de hidróxido de sódio (10 M) ao éster em metanol (240 mL). Colocou-se em refluxo e sob agitação durante três horas, ao final desse período de tempo verteu-se o meio reacional para um gobelet com água destilada (300 mL) e gelo (40 g) e acidificou-se o meio com uma solução aquosa de HCl até que

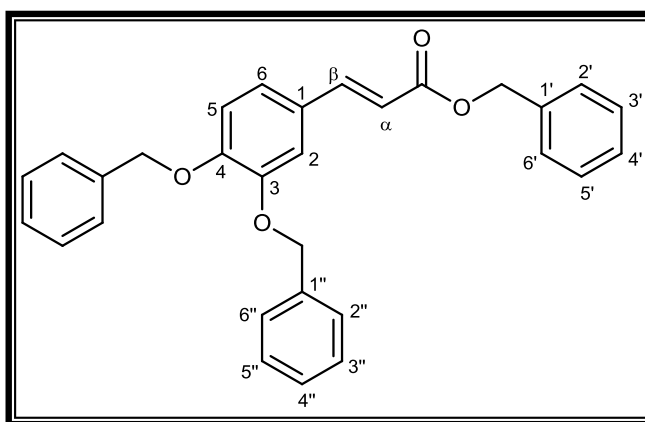
esta ficasse com pH inferior a 4. Filtrou-se o sólido formado, o qual se dissolveu em clorofórmio e lavou-se com água, de seguida evaporou-se o clorofórmio à secura e cristalizou-se com etanol. Obteve-se o ácido (*E*)-3-(3,4-dibenziloxifenil)acrilico (**60**) com rendimento de 69%.

A uma solução de 3 mmol de 2',4',6'-tri-hidroxiacetofenona (**42b**) em CH₂Cl₂ adicionaram-se 3,5 equivalentes de ácido ácido (*E*)-3-(3,4-dibenziloxifenil)acrilico (**60**) o (10,5 mmol), 3,5 equivalentes de DCC (10,5 mmol) e 0,35 equivalentes (1,1 mmol) de 4-pirrolidinopiridina sob atmosfera de azoto e agitação à temperatura ambiente.

(*E*)-3-(3,4-Dibenziloxifenil)acrilato de benzilo (59), η = 95%

RMN de ¹H (300,13MHz, CDCl₃):

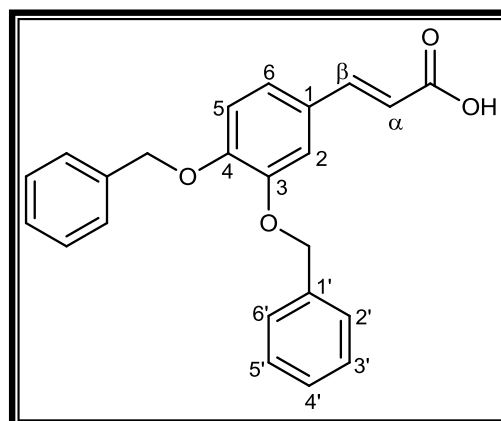
δ = 5,16 (s, 2H, CH₂), 5,19 (s, 2H, CH₂), 5,23 (s, 2H, CH₂), 6,29 (d, 1H, J = 15,9 Hz, H- α), 6,90 (d, 1H, J = 8,3 Hz, H-5), 7,06 (dd, 1H, J = 2,0 e 8,3 Hz, H-6), 7,11 (d, 1H, J = 2,0 Hz, H-2), 7,28-7,45 (m, 15H, 2 \times H-2'-6', 2''-6''), 7,61 (d, 1H, J = 15,9 Hz, H- β) ppm.



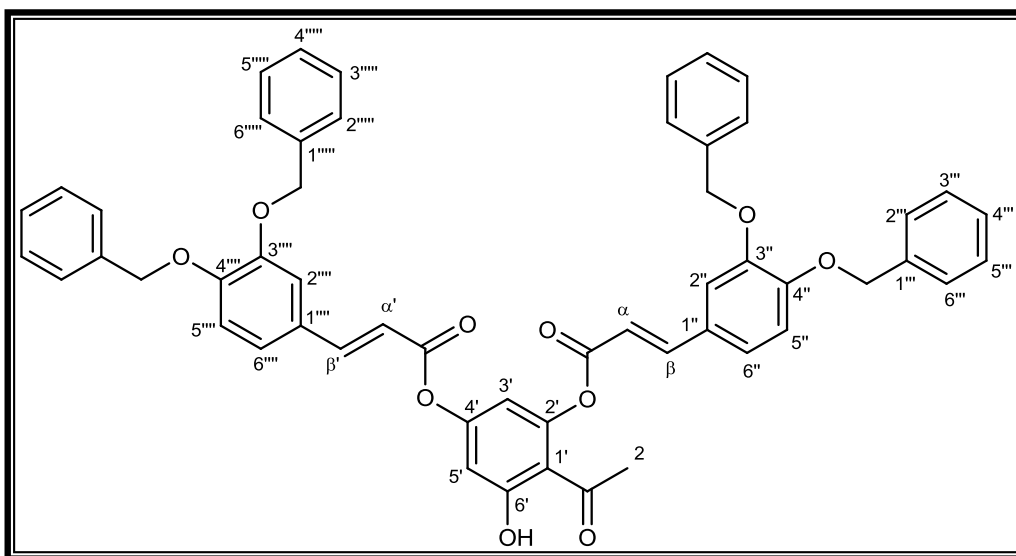
Ácido (*E*)-3-(3,4-dibenziloxifenil)acrilico (60), η = 69%

RMN de ¹H (300,13MHz, CDCl₃): δ = 5,19

(s, 2H, CH₂), 5,21 (s, 2H, CH₂), 6,24 (d, 1H, J = 15,9 Hz, H- α), 6,90 (d, 1H, J = 8,3 Hz, H-5), 7,1 (dd, 1H, J = 2,0 e 8,3 Hz, H-6), 7,13 (d, 1H, J = 2,0 Hz, H-2), 7,29-7,47 (m, 10H, 2 \times H-2'-6'), 7,64 (d, 1H, J = 15,9 Hz, H- β) ppm.



(*E,E*)-Bis-3-[(3,4-dibenziloxifenil)acrilato] de 2-acetil-3-hidroxi-1,5-fenilo (45c)



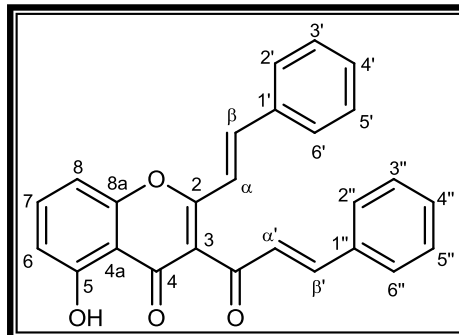
RMN de ^1H (300,13MHz, CDCl_3): δ = 2,61 (s, 3H, H-2), 5,20 (s, 2H, CH_2), 5,22 (s, 2H, CH_2), 5,22 (s, 2H, CH_2), 5,24 (s, 2H, CH_2), 6,35 (d, 1H, J = 16,0 Hz, H- α), 6,41 (d, 1H, 16,0 Hz, H- α'), 6,59 (d, 1H, J = 2,2 Hz, H-3' ou 5'), 6,76 (d, 1H, J = 2,3 Hz, H-3' ou 5'), 6,93 – 6,97 (m, 2H, H-2'',2'''), 7,11 – 7,17 (m, 4H, H-5'',6'',5''',6'''), 7,32 – 7,48 (m, 20H, H-2'''-6''',2''''-6'''''), 7,74 (d, 1H, J = 16,0 Hz, H- β'), 7,80 (d, 1H, J = 16,0 Hz, H- β) ppm.

3.3. Síntese de (*E,E*)-3-cinamoíl-5-hidroxi-2-estirilcromonas

Colocaram-se, num balão de vidro com duas tubuladuras, aproximadamente 3 mmol de 2',6'-di-hidroxiacetofenona (**42a**), 2 equivalentes de K_2CO_3 (6 mmol) em aproximadamente 10 mL de piridina anidra (volume suficiente para cobrir o sensor de temperatura do aparelho de micro-ondas). Fez-se uma montagem, contendo um sensor de temperatura numa das tubuladuras do balão e na outra tubuladura um condensador, tudo sob atmosfera de azoto e com agitação magnética. Irradiou-se a mistura reacional com micro-ondas com 400W de potência durante 17 minutos. Ao fim deste tempo, para terminar a reação, colocou-se a mistura reacional para um copo com gelo (20 g) e acidificou-se com uma solução aquosa de HCl até se atingir um pH abaixo de 2. Filtrou-se o sólido formado e seguidamente dissolveu-se em clorofórmio, lavou-se com água e passou-se por fim por sulfato de sódio anidro. Evaporou-se o solvente até à secura e procedeu-se à cristalização com etanol a quente.

(*E,E*)-3-Cinamoíl-5-hidroxi-2-estirilcromona (46a), η = 64%, p.f.= 208-210°C

RMN de ^1H (300,13MHz, CDCl_3): δ = 6,85 (dd, 1H, J = 8,4 Hz, H-6), 7,04 (dd, 1H, J = 8,4 Hz, H-8), 7,17 (d, 1H, J = 15,9 Hz, H- α), 7,25 (d, 1H, J = 16,0 Hz, H- α'), 7,40 (m, 6H, H-3',3'',4',4'',5',5''), 7,59 (m, 5H, H-7,2',2'',6',6''), 7,70 (d, 1H, J = 16,0 Hz, H- β'), 7,81 (d, 1H, J = 15,9 Hz, H- β), 12,4 (s, 1H, 5-OH) ppm.



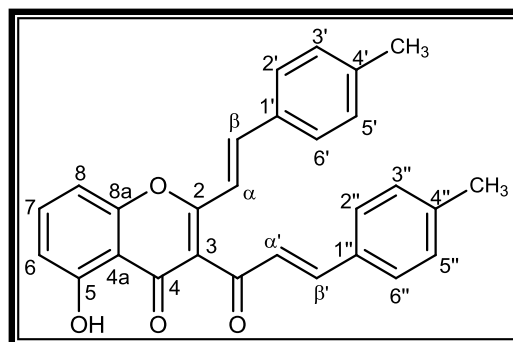
RMN de ^{13}C (75,47MHz, CDCl_3): δ = 106,9 (C-8), 110,5 (C-10), 111,9 (C-6), 117,4 (C- α), 120,8 (C-3), 123,1 (C-6'), 127,1 (C- α'), 128,3 (C-2',6'), 128,8 (C-2'',6''), 128,9 (C-3'',5''), 129,0 (C-3',5'), 130,6 (C-4'), 130,9 (C-4''), 134,4 (C-1''), 134,6 (C-1'), 136,0 (C-7), 140,8 (C- β), 144,8 (C- β'), 155,3 (C-9), 161,0 (C-5), 162,5 (C-2), 181,7 (C-4), 190,8 (C=O) ppm.

EM-EI m/z (int. rel.): 394 ($\text{M}^{+\bullet}$, 100), 393 (20), 376 (10), 365 (13), 317 (38), 315 (20), 303 (8), 289 (33), 275 (7), 263 (12), 180 (11), 155 (9), 137 (11), 131 (11), 127 (27), 103 (31), 91 (16), 77 (29), 51 (8).

Microanálise elementar: Calculado para ($\text{C}_{26}\text{H}_{18}\text{O}_4$): C 79,17%, H 4,60%; encontrado: C 79,09%, H 4,64%.

(*E,E*)-5-Hidroxi-4'-metil-3-(4-metilcinamoíl)-2-estirilcromona (46b), η = 77%, p.f.= 192-194°C

RMN de ^1H (300,13MHz, CDCl_3): δ = 2,38 (s, 6H, 4', 4''-CH₃), 6,84 (dd, 1H, J = 0,8 e 8,4 Hz, H-6), 7,01 (dd, 1H, J = 0,8 e 8,4 Hz, H-8), 7,10 (d, 1H, J = 15,9 Hz, H- α), 7,19 (d, 1H, J = 16,0 Hz, H- α'), 7,38 (d, 4H, J = 8,4 Hz, H-3',3'',5',5''), 7,53 (d, 2H, J = 8,4 Hz, H-2',6'), 7,55 (d, 2H, J = 8,5 Hz, H-2'',6''), 8,29 (t, 1H, J = 8,4 Hz, H-7), 7,66 (d, 1H, J = 16,0 Hz, H- β'), 7,78 (d, 1H, J = 15,9 Hz, H- β), 12,4 (s, 1H, 5-OH) ppm.



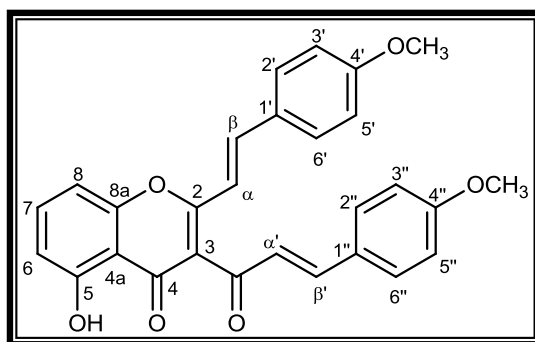
RMN de ^{13}C (75,47 MHz, CDCl_3): δ = 106,8 (C-8), 110,5 (C-10), 112,1 (C-6), 118,0 (C- α), 120,8 (C-3), 123,1 (C-6'), 127,4 (C- α'), 129,0 (C-5'), 129,3 (C-3'',5''), 129,4 (C-3',5'), 129,5 (C-2',6'), 129,9 (C-2'',6''), 132,9 (C-1''), 133,2 (C-1'), 136,2 (C-7), 136,7 (C-4'), 136,8 (C-4''), 139,6 (C- β), 142,9 (C- β'), 155,3 (C-9), 161,1 (C-5), 162,7 (C-2), 181,8 (C-4), 190,3 (C=O) ppm.

EM-EI m/z (int. rel.): 422 (M^{+} , 100), 421 (9), 407 (10), 404 (7), 393 (9), 331 (19), 329 (15), 319 (10), 315 (11), 303 (24), 277 (9), 208 (19), 141 (11), 115 (22), 105 (20), 91 (13).

Microanálise elementar: Calculado para ($C_{28}H_{22}O_4$): C 79,60%, H 5,25%; encontrado: C 79,56%, H 5,35%.

(*E,E*)-5-Hidroxi-4'-metoxi-3-(4-metoxicinamoil)-2-estirilcromona (46c), η = 81%, p.f. = 206-209°C

RMN de 1H (300,13MHz, $CDCl_3$): δ = 3,85 (s, 6H, 4', 4''-OCH₃), 6,83 (dd, 1H, J = 0,8 e 8,4 Hz, H-6), 6,92 (dd, 4H, J = 1,5 e 8,0 Hz, H-2', 2'', 6', 6''), 7,0 (dd, 1H, J = 0,8 e 8,4 Hz, H-8), 7,10 (d, 1H, J = 15,9 Hz, H- α), 7,11 (d, 1H, J = 16,0 Hz, H- α'), 7,56 (t, 1H, J = 8,4 Hz, H-7), 7,57 (dd, 4H, J = 1,5 e 8,0 Hz, H-3', 3'', 5', 5''), 7,64 (d, 1H, J = 16,0 Hz, H- β'), 7,75 (d, 1H, J = 15,9 Hz, H- β), 12,5 (s, 1H, 5-OH) ppm.



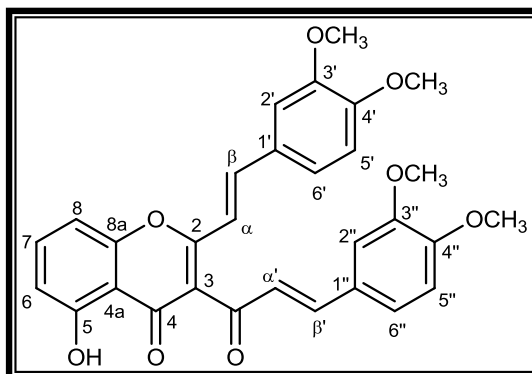
RMN de ^{13}C (75,47 MHz, $CDCl_3$): δ = 106,9 (C-8), 110,5 (C-10), 111,8 (C-6), 116,4 (C- α), 120,6 (C-3), 123,1 (C-6'), 126,4 (C- α'), 128,4 (C-2',6'), 128,8 (C-2'',6''), 129,0 (C-5'), 129,7 (C-3'',5''), 129,8 (C-3',5'), 131,7 (C-1''), 132,0 (C-1'), 136,0 (C-7), 140,8 (C- β), 141,2 (C-4'), 141,5 (C-4''), 145,1 (C- β'), 155,4 (C-9), 161,0 (C-5), 162,6 (C-2), 181,7 (C-4), 191,0 (C=O) ppm.

EM-EI m/z (int. rel.): 454 (M^{+} , 94), 425 (8), 374 (6), 345 (15), 334 (10), 319 (22), 256 (6), 240 (100), 227 (19), 176 (9), 161 (11), 149 (25), 137 (13), 121 (52), 111 (16), 97 (27), 91 (79), 84 (51), 83 (78), 81 (28), 77 (32), 57 (64), 55 (65), 51 (18).

Microanálise elementar: Calculado para ($C_{28}H_{22}O_4$): C 74,00%, H 4,88%; encontrado: C 73,76%, H 5,12%.

(*E,E*)-5-Hidroxi-3',4'-dimetoxi-3-(3,4-dimetoxicinamoíl)-2-estirilcromona (46d),
 $\eta = 81\%$, p.f. = 208-211°C

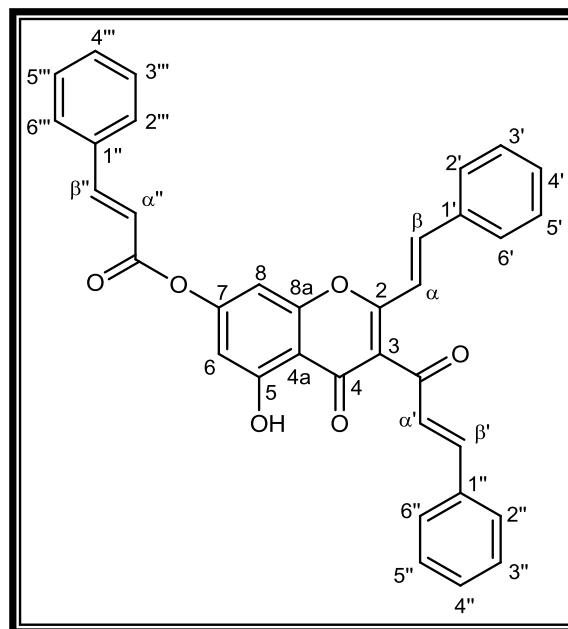
RMN de ^1H (300,13MHz, CDCl_3): $\delta =$ 3,93 (s, 4 x 3H, 3',4',3'' e 4''-OCH₃), 6,84 (dd, 1H, $J = 0,7$ e 8,4 Hz, H-6), 6,88 (d, 1H, $J = 8,3$ Hz, H-5''), 6,89 (d, 1H, $J = 8,3$ Hz, H-5'), 6,90 (d, 1H, $J = 15,8$ Hz, H- α), 7,02 (dd, 1H, $J = 0,7$ e 8,4 Hz, H-8), 7,07 (d, 1H, $J = 1,8$ Hz, H-2'), 7,10 (d, 1H, $J = 15,9$ Hz, H- α'), 7,13 (d, 1H, $J = 1,8$ Hz, H-2''), 7,20 (dd, 2H, $J = 1,8$ e 8,3 Hz, H-6',6''), 7,59 (t, 1H, $J = 8,4$ Hz, H-7), 7,62 (d, 1H, $J = 15,9$ Hz, H- β'), 7,75 (d, 1H, $J = 15,8$ Hz, H- β), 12,5 (s, 1H, 5-OH) ppm.



RMN de ^{13}C (75,47 MHz, CDCl_3): $\delta =$ 56,0 (3',4',3'' e 4''- OCH₃), 106,7 (C-8), 109,9 e 110,1 (C-2' e 2''), 110,5 (C-10), 111,0 e 111,1 (C-5' e 5''), 111,8 (C-6), 115,1 (C- α), 120,3 (C-3), 123,1 (C-6'), 123,8 (C-6''), 125,4 (C- α'), 127,3 (C-1'), 127,8 (C-1''), 135,8 (C-7), 140,7 (C- β), 145,3 (C- β'), 149,2 e 149,3 (C-3' e 3''), 151,5 e 151,7 (C-4' e 4''), 155,4 (C-9), 161,0 (C-5), 162,6 (C-2), 181,6 (C-4), 190,9 (C=O) ppm.

(*E,E,E*)-3-Cinamoíl-7-fenilacrilóil-5-hidroxi-2-estirilcromona, 46e, $\eta = 33\%$

RMN de ^1H (300,13MHz, $\text{DMSO}-d_6$): $\delta =$ 6,65 (d, 2H, $J = 16,0$ Hz, H- α), 6,69 (d, 1H, $J = 2,06$ Hz, H-6), 7,02 (d, 1H, $J = 2,06$ Hz, H-8), 7,13 (d, 1H, $J = 15,9$ Hz, H- α'), 7,24 (d, 1H, $J = 15,8$ Hz, H- α''), 7,44 (m, 9H, H-3'-5',3''-5'',3'''-5'''), 7,60 (m, 6H, H-2', 2'', 2''', 6', 6'', 6'''), 7,69 (d, 1H, $J = 15,8$ Hz, H- β''), 7,79 (d, 1H, $J = 15,9$ Hz, H- β'), 7,93 (d, 1H, $J = 16,0$ Hz, H- β), 12,57 (s, 1H, 5-OH) ppm.



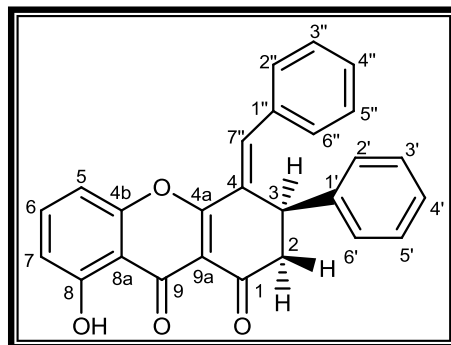
3.4. Síntese de (*E*)-3-*aril*-4-benzilideno-8-hidroxi-3,4-di-hidro-1*H*-xantene-1,9(2*H*)-dionas

Procedeu-se, previamente, à secagem de CH₂Cl₂ em CaCl₂ e das (*E,E*)-3-cinamoil-5-hidroxi-2-estirilcromonas na estufa com cristais de sílica gel. Destilou-se o CH₂Cl₂ (por destilação fracionada) diretamente para o balão que continha a (*E,E*)-3-cinamoil-5-hidroxi-2-estirilcromona correspondente (0,4 mmol) e tapou-se o balão com um septo. Colocou-se o balão num banho de 2-propanol no criostato a -80°C com agitação magnética e atmosfera de azoto. Adicionou-se o BBr₃ (2 mmol) numa solução de CH₂Cl₂ e seguidamente envolveu-se o balão com papel de alumínio e colocou-se a mistura reacional sob agitação magnética, à temperatura ambiente, durante 3 ou 22 horas, dependendo do derivado. Ao fim deste tempo adicionou-se água destilada (aproximadamente 30 mL) e deixou-se de novo sob agitação durante 2 horas. Quando se verificou a formação de sólido este foi filtrado, lavou-se com clorofórmio ou acetato de etilo, dependendo do derivado e fez-se purificação, caso contrário e se não se formasse sólido procedia-se à lavagem do meio reacional com água, passava-se por sulfato de sódio anidro e evaporava-se o solvente.

(*E*)-3-fenil-4-benzilideno-3,4-di-hidro-8-hidroxi-1*H*-xantene-1,9(2*H*)-diona (47a),

η = 68%

RMN de ¹H (300,13MHz, DMSO-*d*₆): δ = 3,08 (dd, 1H, *J* = 3,2 e 15,5 Hz, H-2_{trans}), 3,15 (dd, 1H, *J* = 5,0 e 15,5 Hz, H-2_{cis}), 4,79 (dd, 1H, *J* = 3,2 e 5,0 Hz, H-3), 6,82 (dd, 1H, *J* = 0,7 e 8,4 Hz, H-7), 7,02 (dd, 1H, *J* = 0,7 e 8,4 Hz, H-5), 7,25 - 7,39 (m, 10H, H-2'-6', 2''-6''), 7,57 (t, 1H, *J* = 8,4 Hz, H-6), 8,11 (s, 1H, H-7''), 12,63 (s, 1H, 8-OH) ppm.

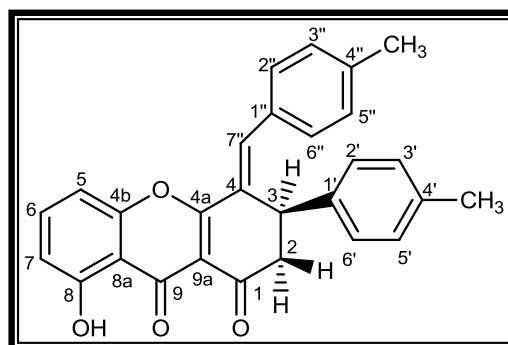


RMN de ¹³C (75,47MHz, DMSO-*d*₆): δ = 40,2 (C-3), 45,6 (C-2), 106,8 (C-5), 111,0 (C-8a), 112,7 (C-7), 113,4 (C-9a), 126,9 (C-2',6'), 127,5 (C-4'), 128,9 (C-3'',5''), 129,2 (C-3',5'), 129,5 (C-2'',6''), 129,7 (C-4), 129,9 (C-4''), 134,2 (C-1''), 136,0 (C-6), 139,0 (C-7''), 140,0 (C-1'), 154,7 (C-4b), 161,7 (C-8), 169,4 (C-4a), 180,1 (C-9), 191,3 (C-1) ppm.

EM (ESI) m/z (int.rel.): 395 (91) [M+H]⁺, 417 (100) [M+Na]⁺, 433 (25) [M+K]⁺.

(E)-8-Hidroxi-4-(4-metilbenzilideno)-3-(4-metilfenil)-3,4-di-hidro-1H-xantene-1,9(2H)-diona (47b), η = 81%

RMN de ^1H (300,13 MHz, DMSO- d_6): δ = 2,29 (s, 1H, 4'-CH₃), 2,37 (s, 1H, 4''-CH₃), 3,05 (dd, 1H, J = 3,2 e 15,5 Hz, H-2_{trans}), 3,12 (dd, 1H, J = 4,8 e 15,5 Hz, H-2_{cis}), 4,75 (dd, 1H, J = 3,2 e 4,8 Hz, H-3), 6,82 (dd, 1H, J = 0,8 e 8,4 Hz, H-7), 7,02 (dd, 1H, J = 0,8 e 8,4 Hz, H-5), 7,10 (d, 2H, J = 8,2 Hz, H-3',5'), 7,18 (d, 2H, J = 8,1 Hz, H-3'',5''), 7,19 (d, 2H, J = 8,1 Hz, H-2'',6''), 7,30 (d, 2H, J = 8,2 Hz, H-2',6'), 7,56 (t, 1H, J = 8,4 Hz, H-6), 8,07 (s, 1H, H-7''), 12,67 (s, 1H, 8-OH) ppm.

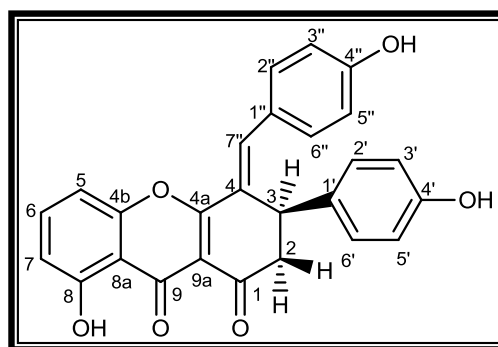


RMN de ^{13}C (75,47 MHz, DMSO- d_6): δ = 20,9 (4'-CH₃), 21,4 (4''-CH₃), 39,9 (C-3), 45,6 (C-2), 106,8 (C-5), 111,0 (C-8a), 112,6 (C-7), 113,3 (C-9a), 126,8 (C-2',6'), 129,0 (C-4), 129,6 (C-3'',5''), 129,7 (C-3',5'), 129,9 (C-2'',6''), 131,4 (C-1''), 135,9 (C-6), 136,8 (C-1'), 137,1 (C-4'), 139,0 (C-7''), 1140,5 (C4''), 154,7 (C-4b), 161,7 (C-8), 169,7 (C-4a), 180,2 (C-9), 191,5 (C-1) ppm.

EM (ESI) m/z (int.rel.): 423 (100) [M+H]⁺, 445 (6) [M+Na]⁺.

(E)-8-Hidroxi-4-(4-hidroxibenzilideno)-3-(4-hidroxifenil)-3,4-di-hidro-1H-xantene-1,9(2H)-diona (47c), η = 53%, p.f.= 319-320°C

RMN de ^1H (300,13 MHz, DMSO- d_6): δ = 2,69 (dd, 1H, J = 2,2 e 14,8 Hz, H-2_{trans}), 3,23 (dd, 1H, J = 5,9 e 14,8 Hz, H-2_{cis}), 4,66 (m, 1H, J = 2,2 e 5,9 Hz, H-3), 6,72 (d, 2H, J = 8,6 Hz, H-3',5'), 6,83 (d, 2H, J = 8,7 Hz, H-3'',5''), 6,84 (dd, 1H, J = 0,9 e 8,3 Hz, H-7), 7,12 (d, 2H, J = 8,6 Hz, H-2',6'), 7,29 (dd, 1H, J = 0,9 e 8,3 Hz, H-5), 7,37 (d, 2H, J = 8,7 Hz, H-2'',6''), 7,72 (t, 1H, J = 8,3 Hz, H-6), 8,18 (s, 1H, H-7''), 9,57 (s, 1H, 4'-OH), 10,50 (s, 1H, 4''-OH), 12,71 (s, 1H, 8-OH) ppm.



RMN de ^{13}C (75,47 MHz, DMSO- d_6): δ = 39,2 (C-3), 46,4 (C-2), 107,7 (C-5), 110,4 (C-8a), 111,9 (C-7), 112,5 (C-9a), 116,0 (C-3'',5''), 115,9 (C-3',5'), 125,2 (C-1''), 125,7 (C-4), 128,1 (C-2',6') 130,8 (C-1'), 132,7 (C-2'',6''), 136,4 (C-6), 139,4 (C-7''), 154,6 (C-4b), 156,5 (C-4'), 160,0 (C4''), 160,6 (C-8), 169,9 (C-4a), 179,8 (C-9), 191,8 (C-1) ppm.

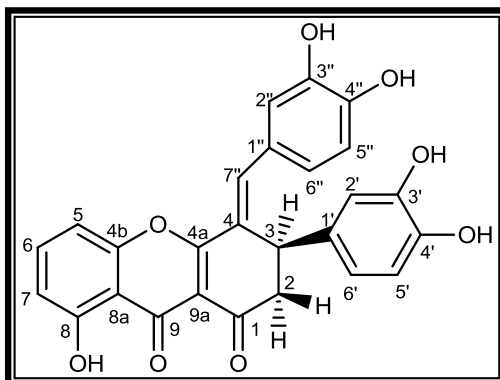
EM (ESI) m/z (int.rel.): 427 (15) [M+H]⁺, 449 (100) [M+Na]⁺, 465 (10) [M+K]⁺

MS (EI⁺): Calculado para [C₂₆H₁₈O₆]⁺ 426,1103; encontrado 426,1116.

(E)-8-Hidroxi-4-(3,4-di-hidroxibenzilideno)-3-(3,4-dihidroxifenil)-3,4-di-hidro-1H-xantene-1,9(2H)-diona (47d), $\eta = 89\%$, p.f. = 275-281°C

RMN de ^1H (300,13 MHz, DMSO- d_6): $\delta =$

2,68 (dd, 1H, $J = 2,7, 14,8$ Hz, H-2_{trans}), 3,16 (dd, 1H, $J = 5,7, 14,8$ Hz, H-2_{cis}), 4,60 (d, 1H, $J = 2,7$ Hz, H-3), 6,57 (dd, 1H, $J = 2,3$ e $8,1$ Hz, H-6'), 6,67 (d, 1H, $J = 2,3$ Hz, H-2'), 6,67 (d, 1H, $J = 8,1$ Hz, H-5'), 6,77 (d, 1H, $J = 8,3$ Hz, H-5''), 6,83 (d, 1H, $J = 8,3$ Hz, H-7), 6,87 (dd, 1H, $J = 1,8$ e $8,3$ Hz, H-6''), 6,97 (d, 1H, $J = 1,8$ Hz, H-2''), 7,29 (d, 1H, $J = 8,1$ Hz, H-5), 7,71 (t, 1H, $J = 8,3$ Hz, H-6), 8,05 (s, 1H, H-7''), 8,87 (s, 1H, 4'-OH), 8,91 (s, 1H, 3'-OH), 9,19 (s, 1H, 3''-OH), 9,84 (s, 1H, 4''-OH), 12,77 (s, 1H, 8-OH) ppm.



RMN de ^{13}C (75,47 MHz, DMSO- d_6): $\delta =$ 39,3 (C-3), 46,2 (C-2), 107,6 (C-5), 110,3 (C-8a), 111,9 (C-7), 112,4 (C-9a), 114,3 (C-2'), 115,8 (C-5'), 116,1 (C-5''), 117,8(8-), 117,9(1) (C-6' e 2''), 123,5 (C-6''), 125,9-126,0 (C-4 e 1''), 131,4 (C-1'), 136,2 (C-6), 139,4 (C-7''), 144,3 (C-3'), 145,4-145,5 (C-4' e 3''), 148,3 (C-4''), 154,5 (C-4b), 160,7 (C-8), 169,9 (C-4a), 179,7 (C-9), 191,4 (C-1) ppm.

3.5. Atividade antioxidante

3.5.1. Poder redutor de Ferro(III)

Foram preparadas amostras de quercetina, BHT e das xantenedionas **47a**, **47c** e **47d** em DMSO com quatro concentrações diferentes de cada uma, 20, 80, 160 e 200 $\mu\text{g/mL}$. A 1,0 mL de cada amostra foram adicionados 1,25 mL de tampão fosfato (0,2 M, pH 6,6) e 1,25 mL de ferricianeto de potássio 1%. A mistura foi incubada a 50°C durante 20 minutos. Depois de arrefecida à temperatura ambiente foram adicionados à mistura anterior 1,25 mL de ácido tricloroacético 10% e novamente incubada a 50°C por 10 minutos. A 1,25 mL desta solução foram adicionados 1,25 mL de água destilada e 0,25 mL de $\text{FeCl}_3(\text{III})$ 0,1%. Foi medida a absorvância de cada amostra a 700 nm contra o branco, no qual a amostra foi substituída por DMSO.

3.5.2. Atividade captadora de radicais DPPH•

Preparou-se uma solução-mãe de DPPH• com uma concentração na ordem de $6,0 \times 10^{-4}$ M, uma solução-mãe de quercetina com concentração $1,55 \times 10^{-4}$ M, uma solução-mãe de xantenediona **47c** com concentração $1,0 \times 10^{-6}$ M e uma solução-mãe de xantenediona **47d** com concentração de $1,05 \times 10^{-6}$ M todas em etanol. Para cada amostra (quercetina, xantenediona **47c** e xantenediona **47d** foram feitos ensaios para três concentrações finais (na célula), segundo indica na tabela 6.

Tabela 6. Volumes utilizados para fazer os testes de capacidade de captação de radicais DPPH• da quercetina e xantenediona **47c** e **47d**.

| | Volume da sol.-mãe das amostras (mL) | Concentração na Célula | Volume da sol.-mãe de DPPH• (mL) | Volume de Etanol (mL) | Volume final (mL) |
|-------------------------|--------------------------------------|---|----------------------------------|-----------------------|-------------------|
| Quercetina | 0,270 | $\frac{1}{6}$ [DPPH] _{inicial} | 0,400 | 3,330 | 4,000 |
| | 0,162 | $\frac{1}{10}$ [DPPH] _{inicial} | 0,400 | 3,438 | 4,000 |
| | 0,081 | $\frac{1}{20}$ [DPPH] _{inicial} | 0,400 | 3,519 | 4,000 |
| Xantenediona 47c | 1,92 | $\frac{1}{8}$ [DPPH] _{inicial} | 0,400 | 1,680 | 4,000 |
| | 0,840 | $\frac{10}{35}$ [DPPH] _{inicial} | 0,400 | 2,760 | 4,000 |
| Xantenediona 47d | 0,220 | $\frac{1}{10}$ [DPPH] _{inicial} | 0,400 | 3,380 | 4,000 |
| | 0,110 | $\frac{1}{20}$ [DPPH] _{inicial} | 0,400 | 3,490 | 4,000 |
| | 0,055 | $\frac{1}{40}$ [DPPH] _{inicial} | 0,400 | 3,545 | 4,000 |

O espectrofotômetro foi programado para medir a absorvância a 517 nm de 3 em 3 segundos e o seu termóstato previamente ajustado para os 20°C.

Para cada solução e de acordo com a tabela fez-se o seguinte procedimento: numa célula de quartzo colocou-se primeiramente o solvente, seguindo-se a solução de DPPH• e por fim a solução de composto. A mistura era homogeneizada e a sua absorvância medida. Como branco utilizou-se uma célula contendo apenas etanol.

IV. Conclusão

Quando este trabalho foi projetado, o seu objetivo era a síntese de derivados poli-hidroxiados de (*E,E*)-3-cinamoíl-2-estirilcromonas e avaliação das suas potencialidades como antioxidantes.

A síntese dos primeiros intermediários, (*E,E*)-bis-3-arylacrilato de 2-acetil-1,3-fenilo **44a-d** e (*E,E,E*)-tris-3-fenilacrilato de 2-acetil-1,3,5-fenilo **45a** foi conseguida por esterificação de Steglich com rendimentos bons a muito bons.

O segundo passo desta via sintética constituiu na transposição e ciclização dos primeiros intermediários em (*E,E*)-3-cinamoíl-5-hidroxi-2-estirilcromonas **46a-d**. As condições de aquecimento neste passo foram alteradas, uma vez que usualmente eram utilizadas condições clássicas de aquecimento e neste trabalho recorreu-se a aquecimento por irradiação com micro-ondas. Os rendimentos obtidos foram bons a muito bons. A utilização de aquecimento por irradiação com micro-ondas nesta transformação foi vantajosa, uma vez que é uma metodologia mais “amiga do ambiente”, mas essencialmente por possibilitar a transformação em dezassete minutos, isto é, muito menos tempo do que o necessário nas condições clássicas de aquecimento. O tri-éster **45a** também foi sujeito a estas condições de transposições e ciclização, originando a (*E,E,E*)-3-cinamoíl-7-(3-fenilacrilóil)-5-hidroxi-2-estirilcromona **46e**.

No terceiro passo desta via sintética, que consistiu na desproteção dos grupos hidroxilos do derivado **46d** originou a (*E*)-8-hidroxi-4-(3,4-di-hidroxibenzilideno)-3-(3,4-di-hidroxifenil)-3,4-di-hidro-1*H*-xantene-1,9-(2*H*)-diona **47d**. Esta estrutura foi comprovada pela análise dos espectros de RMN e para além da desmetilação pretendida ocorreu uma ciclização intramolecular. Os restantes derivados **46a-c** foram sujeitos às mesmas condições reacionais obtendo-se assim as respetivas (*E*)-3-aryl-4-benzilideno-8-hidroxi-3,4-di-hidro-1*H*-xantene-1,9-(2*H*)-diona **47a-c** com elevados rendimentos.

Partindo das xantenedionas sintetizadas **47a-d** planeou-se uma metodologia que levasse à aromatização destes derivados nas xantonas correspondentes. Após inúmeras tentativas, em que na maioria se obtiveram produtos de degradação, reagente de partida ou xantonas que não eram as pretendidas, verificou-se que a reação entre as xantenedionas **47a** e **47d** com DBU sob aquecimento por irradiação com micro-ondas, para além de produtos de degradação origina as xantonas pretendidas. Estas 4-benzilideno-3-fenil-1,8-di-hidroxi-1*H*-xantene-9-onas **48a-b** foram obtidas em quantidades muito baixas sendo a otimização das condições reacionais da sua síntese um ponto a ser desenvolvido futuramente.

Na avaliação da atividade antioxidante das xantenedionas **47a,c-d**, verificou-se que o método de quelação de Fe(II) não foi possível de ser utilizado para este tipo de

derivados devido à sua baixa solubilidade nas condições usadas. Quanto ao poder redutor de ferro(III) dos derivados **47a** e **47c** é muito baixo ao contrário do que se verificou para o derivado **47d** que revelou possuir uma capacidade redutora de ferro (III) superior à do BHT, um ótimo redutor de Fe^{3+} a Fe^{2+} utilizado como controlo positivo neste tipo de testes. A capacidade redutora da xantenediona **47d** é da mesma ordem de grandeza da obtida para a quercetina, que é um exímio antioxidante, nomeadamente redutor de metais. Nos estudos cinéticos de capacidade de captação de radicais DPPH^\bullet e, através dos valores de EC_{50} pode concluir-se que o poder captador de radicais DPPH^\bullet da xantenediona **47c** é muito inferior a qualquer um dos outros dois compostos testados (EC_{50} superior a $5,52 \times 10^{-4} \text{ M}$), uma vez que a concentração necessária para que este derivado reduza a 50% a concentração do radical existente em solução inicialmente é duas ordens de grandeza superior à concentração necessária para a quercetina e a xantenediona **47d** terem o mesmo efeito. Comparando estes dois últimos, o composto **47d** ($\text{EC}_{50} = 4,10 \times 10^{-6} \text{ M}$) possui um EC_{50} inferior ao da quercetina ($\text{EC}_{50} = 6,0 \times 10^{-6} \text{ M}$) o que se traduz num maior poder antioxidante por este mecanismo.

Em ambos os testes de atividade antioxidante realizados a xantenediona **47d** revelou elevado poder antioxidante, o que se provou dever à presença de dois grupos catecol nos anéis D e E deste derivado, e o que confirma a importância da presença deste grupos para um considerável aumento do poder antioxidante tanto em comparação com o derivado sem substituintes nestes anéis mas também com o derivado detentor de apenas um grupo hidroxilo em cada um dos anéis D e E.

V. Bibliografia

1. Vasilev, S. A.; Garazd, M. M.; Khilya, V. P.; "3-Phenoxychromones: Natural distribution, synthetic and modification methods, biological properties." *Chem. Nat. Compd.*, **2006**, 42(3), 241-253.
2. Khobragade, C. N.; Bodade, R. G.; Shinde, M. S.; Jaju, D. R.; Bhosle, R. B.; Dawane, B. S.; "Microbial and xanthine dehydrogenase inhibitory activity of some flavones." *J. Enzym. Inhib. Med. Chem.*, **2008**, 23(3), 341-346.
3. Kabalka, G. W.; Mereddy, A. R.; "Microwave-assisted synthesis of functionalized flavones and chromones." *Tetrahedron Lett.*, **2005**, 46(37), 6315-6317.
4. Hutter, J. A.; Salman, M.; Stavinoha, W. B.; Satsangi, N.; Williams, R. F.; Streeper, R. T.; Weintraub, S. T.; "Antiinflammatory C-glucosyl chromone from *Aloe barbadensis*." *J. Nat. Prod.*, **1996**, 59(5), 541-543.
5. Miller, M. B.; Koltai, P. J.; "Treatment of experimental frostbite with pentoxifylline and aloe vera cream." *Arch. Otolaryngol. Head Neck Surg.*, **1995**, 121(6), 678-680.
6. Somboonwong J, T. S., Jariyapongskul A, Patumraj S.; "Therapeutic effects of Aloe vera on cutaneous microcirculation and wound healing in second degree burn model in rats." *J. Med. Assoc. Thai.*, **2000**, 83(4), 417-425.
7. Thomas, D. R. a. G., P.S. and LaMaster, K. and Tennyson, T.; "Acemannan hydrogel dressing versus saline dressing for pressure ulcers. A randomized, controlled trial." *Adv. Wound Care*, **1998**, 11(6), 273-276.
8. Gallagher, J.; Gray, M.; "Is aloe vera effective for healing chronic wounds?" *J. WOCN*, **2003**, 30(2), 68-71.
9. Roesler, J. S., C.; Kiderlen, A.; Emmendorffer, A.; Wagner, H.; Lohmannmatthes, M. L.; "Application of purified polysaccharides from cell-cultures of the plant *Echinacea-purpurea* to mice mediates protection against systemic infections with *listeria-monocytogenes* and *Candida-albicans*." *Int. J. Immunopharmacol.*, **1991**, 13(1), 27-37.
10. Imanishi, K. S., I.; "Augmentation of natural cell-mediated cyto-toxic reactivity of mouse lymphoid-cells by aloctin-A." *Int. J. Immunopharmacol.*, **1984**, 6(5), 539-543.
11. Imanishi, K.; Suzuki, I.; "Induction of nonspecific cell-mediated cytotoxic reactivity from nonimmune spleen-cells treated with aloctin-A." *Int. J. Immunopharmacol.*, **1986**, 8(7), 781-787.
12. Imanishi, K. T., K.; Suzuki, I.; "Augmentation of lyphokine-activated killer cell-activity *in vitro* by aloctin-A." *Int. J. Immunopharmacol.*, **1986**, 8(8), 855-858.

13. Kim, H. S.; Kacew, S.; Lee, B. M.; "In vitro chemopreventive effects of plant polysaccharides (Aloe barbadensis Miller, Lentinus edodes, Ganoderma lucidum and Coriolus versicolor)." *Carcinogenesis*, **1999**, 20(8), 1637-1640.
14. Zhao, J.; Wang, J. N.; Chen, Y. J.; Agarwal, R.; "Anti-tumor-promoting activity of a polyphenolic fraction isolated from grape seeds in the mouse skin two-stage initiation-promotion protocol and identification of procyanidin B5-3 '-gallate as the most effective antioxidant constituent." *Carcinogenesis*, **1999**, 20(9), 1737-1745.
15. Keum, Y. S.; Park, K. K.; Lee, J. M.; Chun, K. S.; Park, J. H.; Lee, S. K.; Kwon, H.; Surh, Y. J.; "Antioxidant and anti-tumor promoting activities of the methanol extract of heat-processed ginseng." *Cancer Lett.*, **2000**, 150(1), 41-48.
16. Hanley, D. C.; Solomon, W. A. B.; Saffran, B.; Davis, R. H.; "The evaluationa of natural substances in the treatment of adjuvant arthritis." *J. Am. Pod. Assoc.*, **1982**, 72(6), 275-284.
17. Davis, R. H.; Agnew, P. S.; Shapiro, E.; "Antiarthritic activity of anthraquinones found in *Aloe* for podiatric medicine." *J. Am. Podiatr. Med. Assoc.*, **1986**, 76(2), 61-66.
18. Davis, R. H.; Stewart, G. J.; Bregman, P. J.; "*Aloe-Vera* and the inflamed synovial pouch model." *J. Am. Podiatr. Med. Assoc.*, **1992**, 82(3), 140-148.
19. Dykman, K. D.; Tone, C.; Ford, C.; Dykman, R. A.; "The effects of nutritional supplements on the symptoms of fibromyalgia and chronic fatigue syndrome." *Integr. Physiol. Behav. Sci.*, **1998**, 33(1), 61-71.
20. Pecere, T.; Gazzola, M. V.; Mucignat, C.; Parolin, C.; Dalla Vecchia, F.; Cavaggioni, A.; Basso, G.; Diaspro, A.; Salvato, B.; Carli, M.; Palu, G.; "Aloe-emodin is a new type of anticancer agent with selective activity against neuroectodermal tumors." *Cancer Res.*, **2000**, 60(11), 2800-2804.
21. Boudreau, M. D.; Beland, F. A.; "An evaluation of the biological and toxicological properties of *Aloe Barbadensis* (Miller), *Aloe Vera*." *J. Environ. Sci. Health. C*, **2006**, 24(1), 103 - 154.
22. Ghannam, N. K., M.; Almeshaal, I. A.; Tariq, M.; Parman, N. S.; Woodhouse, N.; "The antidiabetic activity of Aloes - preliminary clinical and experimental observations." *Hormone Res.*, **1986**, 24(4), 288-294.
23. Ajabnoor, M. A.; "Effect of Aloes on blood-glucose levels in normal and alloxan diabetic mice." *J. Ethnopharmacol.*, **1990**, 28(2), 215-220.
24. Bunyapraphatsara, N.; Yongchaiyudha, S.; Rungpitarangsi, V.; Chokechaijaroenporn, O.; "Antidiabetic activity of *Aloe vera* L juice II. Clinical trial

- in diabetes mellitus patients in combination with glibenclamide." *Phytomedicine*, **1996**, 3(3), 245-248.
25. Gomes, A.; Freitas, M.; Fernandes, E.; Lima, J. L.; "Biological activities of 2-styrylchromones." *Mini Rev. Med. Chem.*, **2010**, 10(1), 1-7.
26. Fernandes, E.; Carvalho, M.; Carvalho, F.; Silva, A. M. S.; Santos, C. M. M.; Pinto, D. C. G. A.; Cavaleiro, J. A. S.; Bastos, M. L.; "Hepatoprotective activity of polyhydroxylated 2-styrylchromones against tert-butylhydroperoxide induced toxicity in freshly isolated rat hepatocytes." *Arch. Toxicol.*, **2003**, 77(9), 500-505.
27. Gomes, A.; Fernandes, E.; Silva, A. M. S.; Santos, C. M. M.; Pinto, D. C. G. A.; Cavaleiro, J. A. S.; Lima, J. L. F. C.; "2-Styrylchromones: Novel strong scavengers of reactive oxygen and nitrogen species." *Bioorg. Med. Chem.*, **2007**, 15(18), 6027-6036.
28. Gomes, A.; Fernandes, E.; Silva, A. M. S.; Pinto, D. C. G. A.; Santos, C. M. M.; Cavaleiro, J. A. S.; Lima, J. L. F. C.; "Anti-inflammatory potential of 2-styrylchromones regarding their interference with arachidonic acid metabolic pathways." *Biochem. Pharmacol.*, **2009**, 78(2), 171-177.
29. Marinho, J.; Pedro, M.; Pinto, D. C. G. A.; Silva, A. M. S.; Cavaleiro, J. A. S.; Sunkel, C. E.; Nascimento, M. S. J.; "4'-Methoxy-2-styrylchromone a novel microtubule-stabilizing antimitotic agent." *Biochem. Pharmacol.*, **2008**, 75(4), 826-835.
30. Gerwick, W. H.; Lopez, A.; Van Duyne, G. D.; Clardy, J.; Ortiz, W.; Baez, A.; "Hormothamnione, a novel cytotoxic styrylchromone from the marine cyanophyte hormothamnion enteromorphoides grunow." *Tetrahedron Lett.*, **1986**, 27(18), 1979-1982.
31. Gerwick, W. H.; "6-Desmethoxyhormothamnione, a new cytotoxic styrylchromone from the marine cryptophyte *Chrysophaeum taylori*." *J. Nat. Prod.*, **1989**, 52(2), 252-256.
32. Yoon, J. S.; Lee, M. K.; Sung, S. H.; Kim, Y. C.; "Neuroprotective 2-(2-phenylethyl)chromones of *Imperata cylindrica*." *J. Nat. Prod.*, **2006**, 69(2), 290-291.
33. Pinto, D. C. G. A.; Silva, A. M. S.; Cavaleiro, J. A. S.; "A convenient synthesis of new (E)-5-hydroxy-2-styrylchromones by modifications of the Baker-Venkataraman method." *New J. Chem.*, **2000**, 24(2), 85-92.

34. Yang, L.; Qiao, L.; Xie, D.; Yuan, Y.; Chen, N.; Dai, J.; Guo, S.; "2-(2-Phenylethyl)chromones from Chinese eaglewood." *Phytochemistry*, **2012**, 76(0), 92-97.
35. Silva, A. M. S.; Pinto, D. C. G. A.; Cavaleiro, J. A. S.; Levai, A.; Patonay, T.; "Synthesis and reactivity of styrylchromones " *ARKIVOC*, **2004**, 106-123.
36. Pinto, D. C. G. A.; Silva, A. M. S.; Cavaleiro, J. A. S.; "Synthesis of 6,8-(dibromo or diiodo)-5-hydroxy-2-(phenyl or styryl)chromones." *Tetrahedron Lett.*, **1994**, 35(50), 9459-9460.
37. Silva, A. M. S.; Pinto, D. C. G. A.; Cavaleiro, J. A. S.; "5-Hydroxy-2-(phenyl or styryl) chromones: One-pot synthesis and C-6, C-8 ¹³C NMR assignments." *Tetrahedron Lett.*, **1994**, 35(32), 5899-5902.
38. Pinto, D. C. G. A.; Silva, A. M. S.; Cavaleiro, J. A. S.; "Syntheses of 5-hydroxy-2-(phenyl or styryl)chromones and of some halo derivatives." *J. Heterocyclic Chem.*, **1996**, 33(6), 1887-1893.
39. Pinto, D. C. G. A.; Silva, A. M. S.; Almeida, L. M. P. M.; Cavaleiro, J. A. S.; Lévai, A.; Patonay, T.; "Synthesis of 4-Aryl-3-(2-chromonyl)-2-pyrazolines by the 1,3-dipolar cycloaddition of 2-styrylchromones with diazomethane." *J. Heterocyclic Chem.*, **1998**, 35(1), 217-224.
40. Pinto, D. C. G. A.; Silva, A. M. S.; Cavaleiro, J. A. S.; "Baker-Venkataraman Rearrangement Under Microwave Irradiation: A New Strategy for the Synthesis of 3-Aroyl-5-hydroxyflavones." *Synlett*, **2007**, 2007(12).
41. Gomes, A.; Neuwirth, O.; Freitas, M.; Couto, D.; Ribeiro, D.; Figueiredo, A. G. P. R.; Silva, A. M. S.; Seixas, R. S. G. R.; Pinto, D. C. G. A.; Tomé, A. C.; Cavaleiro, J. A. S.; Fernandes, E.; Lima, J. L. F. C.; "Synthesis and antioxidant properties of new chromone derivatives." *Bioorg. Med. Chem.*, **2009**, 17(20), 7218-7226.
42. Santos, C. M. M.; Silva, A. M. S.; Cavaleiro, J. A. S.; "Synthesis of new hydroxy-2-styrylchromones." *Eur. J. Org. Chem.*, **2003**(23), 4575-4585.
43. Königs, P.; Neumann, O.; Kataeva, O.; Schnakenburg, G.; Waldvogel, S. R.; "Convenient synthesis of 3-cinnamoyl-2-styrylchromones: Reinvestigation of the Baker–Venkataraman rearrangement." *Eur. J. Org. Chem.*, **2010**, 2010(33), 6417-6422.
44. Peres, V.; Nagem, T. J.; "Naturally occurring penta-oxygenated, hexa-oxygenated and dimeric xanthenes: a literature survey." *Quím. Nova*, **1997**, 20, 388-397.
45. Pinto, M. M. M.; Sousa, M. E.; Nascimento, M. S. J.; "Xanthone derivatives: New insights in biological activities." *Curr. Med. Chem.*, **2005**, 12(21), 2517-2538.

46. Sousa, M. E.; Pinto, M. M. M.; "Synthesis of Xanthones: An Overview." *Curr. Med. Chem.*, **2005**, 12(21), 2447-2479.
47. Cardona, M. L.; Fernandes, I.; Pedro, J. R.; Serrano, A.; "Xanthones from *Hypericum reflexum*." *Phytochemistry*, **1990**, 29(9), 3003-3006.
48. Kijjoa, A.; Jose, M.; Gonzalez, T. G.; Pinto, M. M. M.; Damas, A. M.; Mondranondra, I. O.; Silva, A. M. S.; Herz, W.; "Xanthones from *Cratoxylum Maingayi*." *Phytochemistry*, **1998**, 49(7), 833 - 836.
49. Chiang, Y.-M.; Kuo, Y.-H.; Oota, S.; Fukuyama, Y.; "Xanthones and benzophenones from the stems of *Garcinia multiflora*." *J. Nat. Prod.*, **2003**, 66(8), 1070-1073.
50. Peres, V.; Nagem, T. J.; de Oliveira, F. F.; "Tetraoxygenated naturally occurring xanthones." *Phytochemistry*, **2000**, 55(7), 683-710.
51. Castanheiro, R. A. P.; Pinto, M. M. M.; Silva, A. M. S.; Cravo, S. M. M.; Gales, L.; Damas, A. M.; Nazareth, N.; Nascimento, M. S. J.; Eaton, G.; "Dihydroxyxanthones prenylated derivatives: Synthesis, structure elucidation, and growth inhibitory activity on human tumor cell lines with improvement of selectivity for MCF-7." *Bioorg. Med. Chem.*, **2007**, 15, 6080 - 6088.
52. Suvarnakuta, P.; Chaweerungrat, C.; Devahastin, S.; "Effects of drying methods on assay and antioxidant activity of xanthones in mangosteen rind." *Food Chem.*, **2011**, 125(1), 240-247.
53. Santos, C. M. M.; Freitas, M.; Ribeiro, D.; Gomes, A.; Silva, A. M. S.; Cavaleiro, J. A. S.; Fernandes, E.; "2,3-Diarylxanthones as strong scavengers of reactive oxygen and nitrogen species: A structure–activity relationship study." *Bioorg. Med. Chem.*, **2010**, 18, 6776 - 6784.
54. Morliere, P.; Patterson, L. K.; Santos, C. M. M.; Silva, A. M. S.; Maziere, J.; Filipe, P.; Gomes, A.; Fernandes, E.; Garcia, M. B. Q.; Santus, R.; "The dependence of [small alpha]-tocopheroxyl radical reduction by hydroxy-2,3-diarylxanthones on structure and micro-environment." *Org. Biomol. Chem.*, **2012**, 10(10), 2068-2076.
55. Santos, C. M. M.; Silva, A. M. S.; Filipe, P.; Santus, R.; Patterson, L. K.; Maziere, J.-C.; Cavaleiro, J. A. S.; Morliere, P.; "Structure-activity relationships in hydroxy-2,3-diarylxanthone antioxidants. Fast kinetics spectroscopy as a tool to evaluate the potential for antioxidant activity in biological systems." *Org. Biomol. Chem.*, **2011**, 9(10), 3965-3974.

56. Santos, C. M. M.; Garcia, M. B. Q.; Silva, A. M. S.; Santus, R.; Morlière, P.; Fernandes, E.; "Electrochemical characterization of bioactive hydroxyxanthenes by cyclic voltammetry " *Tetrahedron Lett.*, **2013** *54*, 85-90.
57. Chibale, K.; Visser, M.; van Schalkwyk, D.; Smith, P. J.; Saravanamuthu, A.; Fairlamb, A. H.; "Exploring the potential of xanthene derivatives as trypanothione reductase inhibitors and chloroquine potentiating agents." *Tetrahedron*, **2003**, *59*(13), 2289-2296.
58. Alcantara-Licudine, J. P.; Kawate, M. K.; Li, Q. X.; "Method for the analysis of phloxine B, uranine, and related xanthene dyes in soil using supercritical fluid extraction and high-performance liquid chromatography." *J. Agric. Food Chem.*, **1997**, *45*(3), 766-773.
59. Azebaze, A. G. B.; Meyer, M.; Valentin, A.; Nguemfo, E. L.; Fomun, Z. T.; Nkengfack, A. E.; "Prenylated xanthone derivatives with antiplasmodial activity from *Allanblackia monticola* STANER L.C." *Chem. Pharm. Bull.*, **2006**, *54*(1), 111-113.
60. Thangadurai, D.; Ramesh, N.; Viswanathan, M. B.; Prasad, D. X.; "A novel xanthene from *Indigofera longeracemosa* stem." *Fitoterapia*, **2001**, *72*(1), 92-94.
61. Shchekotikhin, Y.; Nikolaeva, T. G.; "Transformations of *sym*-octahydro-xanthene-1,8-dioxo-*sym*-octahydroxanthylum salts in recyclizations under the influence of amines " *Chem. Heterocyc. Compd.*, **2006**, *42*(1), 28-33.
62. El Ashry, E. S. H.; Awad, L. F.; Ibrahim, E. S. I.; Bdeewy, O. K.; "Microwave irradiation for accelerating the synthesis of acridine and xanthene derivatives from dimedone." *ARKIVOC* **2006** 178-186.
63. Krasnoff, S. B.; Faloon, D.; Williams, J. E.; Gibson, D. M.; "Toxicity of xanthene dyes to entomopathogenic fungi." *Biocontrol Sci. Techn.*, **1999**, *9*.
64. Jung, D. H.; Lee, Y. R.; Kim, S. H.; Lyoo, W. S.; "New and general methods for the synthesis of arylmethylene bis(3-hydroxy-2-cyclohexene-1-ones) and xanthenediones by EDDA and In(OTf)₃-catalyzed one-pot domino Knoevenagel/Michael or Knoevenagel/Michael/Cyclodehydration reactions." *Bull. Korean Chem. Soc.*, **2009**, *30*(9), 1989-1995.
65. Chatterjee, S.; Iqbal, M.; Kauer, J. C.; Mallamo, J. P.; Senadhi, S.; Mallya, S.; Bozyczko-Coyne, D.; Siman, R.; "Xanthene derived potent nonpeptidic inhibitors of recombinant human calpain I." *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **1996**, *6*(13), 1619-1622.

66. Saint-Ruf, G.; Huynh, T. H.; Poupelin, J. P.; "The effect of dibenzoxanthenes on the paralyzing action of zoxazolamine." *Naturwissenschaften*, **1975**, 62(12), 584-585.
67. Pore, D. M.; Shaikh, T. S.; Patil, N. G.; Dongare, S. B.; Desai, U. V.; "Envirocat EPZ-10: A solid acid catalyst for the synthesis of 1,8-dioxo-octahydroxanthenes in aqueous medium." *Synthetic Commun.*, **2010**, 40(15), 2215-2219.
68. Song, G.; Wang, B.; Luo, H.; Yang, L.; "Fe³⁺-montmorillonite as a cost-effective and recyclable solid acidic catalyst for the synthesis of xanthenediones." *Catal. Commun.*, **2007**, 8(4), 673-676.
69. Hu, X. Y.; Fan, X. S.; Zhang, X. Y.; Wang, J. J.; "A green and efficient synthesis of xanthenedione derivatives promoted by InCl₃·4H₂O in ionic liquid " *Chinese Chem. Lett.*, **2005**, 16(3), 293 - 295.
70. Mosaddegh, E.; Islami, M. R.; Hassankhani, A.; "ZrOCl₂·8H₂O as an efficient and recyclable catalyst for the clean synthesis of xanthenedione derivatives under solvent-free conditions." *Arab. J. Chem.*, **2012**, 5(1), 77-80.
71. Karthikeyan, G.; Pandurangan, A.; "Heteropolyacid (H₃PW₁₂O₄₀) supported MCM-41: An efficient solid acid catalyst for the green synthesis of xanthenedione derivatives." *J. Mol. Catal. A-Chem.*, **2009**, 311(1-2), 36-45.
72. Gabbutt, C. D.; Hepworth, J. D.; Urquhart, M. W. J.; de Miguel, L. M. V.; "Synthesis and conjugate additions of 2,3,4,9-tetrahydro-1H-xanthene-1,9-diones." *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, **1997**(12), 1819-1824.
73. Panico, R.; Powell, W. H.; Richer, J.-C., *A guide to IUPAC nomenclature of organic compounds (recommendations 1993)*(Blackwell Science, Oxford, 1993.
74. Pinto, D. C. G., *Tese de Doutorado*, Universidade de Aveiro, 1996
75. Santos, C. M. M., *Tese de Mestrado*, Universidade de Aveiro, 2000
76. Shahidi, F.; Naczk, M., *Food phenolics: sources, chemistry, effects and applications*. Technomic Publishing Company, Inc., Lancaster, 1995.
77. Rice-Evans, C. A.; Packer, L., *Flavonoids in Health and Disease*. Marcel Dekker, Inc, New York, 1998.
78. Samee, W.; Nunthanavanit, P.; Ungwitayatorn, J.; "3D-QSAR investigation of synthetic antioxidant chromone derivatives by molecular field analysis." *Int. J. Mol. Sci.* , **2008**, 9(3), 235-246.
79. Jullian, C.; Moyano, L.; Yanez, C.; Olea-Azar, C.; "Complexation of quercetin with three kinds of cyclodextrins: An antioxidant study." *Spectrochim. Acta*, **2007**, 67, 230-234.

80. Pinchuk, I.; Shoval, H.; Dotan, Y.; Lichtenberg, D.; "Evaluation of antioxidants: Scope, limitations and relevance of assays." *Chem. Phys. Lipids*, **2012**, 165(6), 638-647.
81. Badarinath, A. V.; Mallikarjuna, R. K.; Chetty, C. M. S.; Ramkanth, S.; Rajan, T. V. S.; Gnanaprakash, K.; "A Review on *in-vitro* antioxidant methods: comparisons, correlations and considerations." *Int. J. Pharm. Tech. Res.*, **2010**, 2(2), 1276-1285.
82. Chanda, S.; Dave, R.; "In vitro models for antioxidant activity evaluation and some medicinal plants possessing antioxidant properties: An overview." *Afr. J. Microbiol. Res.*, **2009**, 3(13), 981-996.
83. Alam, M. N.; Bristi, N. J.; Rafiquzzaman, M.; "Review on in vivo and in vitro methods evaluation of antioxidant activity." *Saudi Pharm. J.*, **2012**.
84. Sánchez-Vioque, R.; Rodríguez-Conde, M. F.; Reina-Ureña, J. V.; Escolano-Tercero, M. A.; Herraiz-Peñalver, D.; Santana-Méridas, O.; "In vitro antioxidant and metal chelating properties of corm, tepal and leaf from saffron (*Crocus sativus* L.)." *Ind. Crop. Prod.*, **2012**, 39(0), 149-153.
85. Oyaizu, M.; "Studies on products of browning reaction. Antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine." *Jpn. J. Nutr.*, **1986**, 44, 307 - 315.
86. Vladimir-Knežević, S.; Blažeković, B.; Štefan, M. B.; Alegro, A.; Kőszegi, T.; Petrik, J.; "Antioxidant activities and polyphenolic contents of three selected micromeria species from Croatia " *Molecules*, **2011**, 16, 1454 - 1470.
87. Antolovich, M.; Prenzler, P. D.; Patsalides, E.; McDonald, S.; Robards, K.; "Methods for testing antioxidant activity." *Analyst*, **2002**, 127(3), 183–198.
88. Diana C. G. A. Pinto, A. M. S. S., José A. S. Cavaleiro; "A convenient synthesis of new (E)-5-hydroxy-2-styrylchromones by modifications of the Baker-Venkataraman method." *New J. Chem.* , **2000**, 24(2), 85-92.